

537,002

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
10. Juni 2004 (10.06.2004)

PCT

10/537002



Rec'd PCT/PTO 20 MAY 2005  
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2004/047863 A2

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: A61K 39/395

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/013091

(22) Internationales Anmeldedatum:  
21. November 2003 (21.11.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
102 54 601.0 22. November 2002 (22.11.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): GANYMED PHARMACEUTICALS AG  
[DE/DE]; Freiligrathstr. 12, 55131 Mainz (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SAHIN, Ugur  
[TR/DE]; Philipp von Zabern Platz 1, 55116 Mainz (DE).  
TÜRECI, Özlem [DE/DE]; Philipp von Zabern Platz 1,  
55116 Mainz (DE). KOSŁOWSKI, Michael [DE/DE];  
Rodderweg 24, 50999 Köln (DE).

(74) Anwälte: VOSSIUS, Volker usw.; Geibelstrasse 6, 81679  
München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,  
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,  
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,  
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,  
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,  
PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN,  
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (BW,  
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,  
TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ,  
DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF,  
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD,  
TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-  
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-  
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-  
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der  
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: GENETIC PRODUCTS DIFFERENTIALLY EXPRESSED IN TUMORS AND THE USE THEREOF

(54) Bezeichnung: DIFFERENTIELL IN TUMOREN EXPRIMIERTE GENPRODUKTE UND DEREN VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to the identification of genetic products expressed in association with tumors and to coding nucleic acids for said products. Said invention also relates to the therapy and diagnosis of disease in which the genetic products are aberrantly expressed in association with tumors, proteins, polypeptides and peptides which are expressed in association with tumors, and to the nucleic coding acids for said polypeptides, peptides and proteins.

(57) Zusammenfassung: Erfindungsgemäss wurden Tumor-assoziiert exprimierte Genprodukte und die dafür kodierenden Nukleinsäuren identifiziert. Die vorliegende Erfindung betrifft die Therapie und Diagnose von Erkrankungen, bei denen diese Tumor-assoziiert exprimierten Genprodukte aberrant exprimiert werden. Des weiteren betrifft die Erfindung Proteine, Polypeptide und Peptide, die Tumor-assoziiert exprimiert werden und die dafür kodierenden Nukleinsäuren.

BEST AVAILABLE COPY

WO 2004/047863 A2

## Differentiell in Tumoren exprimierte Genprodukte und deren Verwendung

5

Trotz interdisziplinärer Ansätze und Ausreizung klassischer Therapiemodalitäten gehören Krebserkrankungen weiterhin zu den führenden Todesursachen. Neuere therapeutische Konzepte zielen darauf ab, das patienteneigene Immunsystem durch Einsatz von rekombinanten Tumorstoffen und anderen spezifischen Maßnahmen wie Antikörpertherapie in das therapeutische Gesamtkonzept mit einzubeziehen. Voraussetzung für den Erfolg einer solchen Strategie ist die Erkennung von Tumor-spezifischen oder Tumor-assoziierten Antigenen bzw. Epitopen durch das Immunsystem des Patienten, dessen Effektorfunktionen interventionell verstärkt werden sollen. Tumorzellen unterscheiden sich biologisch wesentlich von ihren nichtmalignen Ursprungszellen. Diese Differenzen sind durch während der Tumorentwicklung erworbene genetische Veränderungen bedingt und führen u.a. auch zur der Bildung qualitativ oder quantitativ veränderter molekularer Strukturen in den Krebszellen. Werden solche Tumor-assoziierten Strukturen vom spezifischen Immunsystem des tumortragenden Wirtes erkannt, spricht man von Tumor-assoziierten Antigenen. An der spezifischen Erkennung von Tumor-assoziierten Antigenen sind zelluläre und humorale Mechanismen beteiligt, die zwei miteinander funktionell vernetzte Einheiten darstellen: CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten erkennen prozessierte Antigene, die auf den Molekülen der MHC- (Major Histocompatibility complex = Histokompatibilitätsantigene) Klassen II bzw. I präsentiert werden, während B-Lymphozyten zirkulierende Antikörpermoleküle produzieren, die direkt an unprozessierte Antigene binden. Die potentielle klinisch-therapeutische Bedeutung von Tumor-assoziierten Antigenen ergibt sich aus der Tatsache, dass die Erkennung von Antigenen auf neoplastischen Zellen durch das Immunsystem zur Initiierung von cytotoxischen Effektormechanismen führt und bei Vorhandensein von T-Helferzellen die Elimination der Krebszellen bewirken kann (Pardoll, *Nat. Med.* 4:525-31, 1998). Entsprechend ist es eine zentrale Zielsetzung der Tumorimmunologie, diese Strukturen molekular zu definieren. Die molekulare Natur dieser Antigene blieb lange enigmatisch. Erst als entsprechende Klonierungstechniken entwickelt wurden, gelang es, durch Analyse der Zielstrukturen von cytotoxischen T-Lymphozyten (CTL) (van der Bruggen et al., *Science* 254:1643-7, 1991) bzw. mit zirkulierenden Autoantikörpern (Sahin et al., *Curr. Opin. Immunol.* 9:709-16, 1997) als Sonden cDNA-Expressionsbanken von Tumoren systematisch auf Tumor-assoziierte Antigene zu screenen. Hierzu wurden cDNA-Expressionsbanken aus

frischem Tumorgewebe hergestellt und in geeigneten Systemen als Proteine rekombinant exprimiert. Aus Patienten isolierte Immuneffektoren, nämlich CTL-Klone mit Tumorspezifischem Lysemuster oder zirkulierende Autoantikörper, wurden genutzt, um die respektiven Antigene zu klonieren.

5

Durch diese Ansätze sind in den letzten Jahren eine Vielzahl von Antigenen in verschiedenen Neoplasien definiert worden. Allerdings nutzen die oben dargestellten klassischen Verfahren zur Antigenidentifizierung Immuneffektoren (zirkulierende Autoantikörper oder CTL-Klone) aus Patienten mit in der Regel bereits fortgeschrittenem Krebs als Sonden. Aus einer Reihe von Daten geht hervor, dass Tumoren z.B. zur Tolerisierung und Anergisierung von T-Zellen führen können und gerade im Verlauf der Erkrankung diejenigen Spezifitäten aus dem Immuneffektorenrepertoire verloren gehen, die eine effektive Immunerkennung bewirken könnten. Aus laufenden Patientenstudien hat sich noch kein gesicherter Beweis für eine tatsächliche Wirkung der bisher entdeckten und genutzten Tumor-assoziierten Antigene ergeben. Entsprechend kann nicht ausgeschlossen werden, dass spontane Immunantworten evozierende Proteine die falschen Zielstrukturen sind.

10  
15

Es war die Aufgabe der vorliegenden Erfindung Zielstrukturen für eine Diagnose und Therapie von Krebserkrankungen bereitzustellen.

20

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch den Gegenstand der Patentansprüche gelöst.

25

30

Erfindungsgemäß wurde eine Strategie für eine Identifizierung und Bereitstellung Tumor-assoziiert exprimierter Antigene und der dafür kodierenden Nukleinsäuren verfolgt. Diese Strategie beruht auf der Tatsache, dass bestimmte Gene, die Organ-spezifisch, z.B. ausschließlich im Kolon-, Lungen- oder Nieren-Gewebe, exprimiert werden, in den entsprechenden Organen auch von Tumorzellen und darüber hinaus in anderen Geweben in Tumorzellen ektop und unerlaubt reaktiviert werden. Durch Datamining wird zunächst eine möglichst komplette Liste aller bekannten Organ-spezifischen Gene aufgestellt und diese sodann durch Expressionsanalysen mittels spezifischer RT-PCR auf ihre aberrante Aktivierung in unterschiedlichen Tumoren evaluiert. Datamining ist ein bekanntes Verfahren zur Identifizierung von Tumor-assoziierten Genen. Bei den herkömmlichen Strategien werden allerdings in der Regel Transkriptomte von Normalgewebesbanken elektronisch von Tumorgewebsbanken subtrahiert unter der Annahme, dass die verbleibenden Gene Tumor-

spezifisch sind (Schmitt et al., *Nucleic Acids Res.* 27:4251-60, 1999; Vasmatazis et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95:300-4, 1998; Scheurle et al., *Cancer Res.* 60:4037-43, 2000).

- Das erfindungsgemäße Konzept, das sich als viel erfolgreicher erwiesen hat, beruht jedoch darauf, Datamining zur elektronischen Extraktion aller Organ-spezifischer Gene zu nutzen und diese sodann auf Expression in Tumoren zu evaluieren.

Somit betrifft die Erfindung in einem Aspekt eine Strategie zur Identifizierung von Gewebespezifischen und differentiell in Tumoren exprimierten Genen. Diese Strategie kombiniert Datamining von öffentlichen Sequenzbanken ("*in silico*") mit darauf folgenden evaluierenden labor-experimentellen ("*wet bench*") Untersuchungen.

Eine kombinierte Strategie basierend auf zwei unterschiedlichen bioinformatischen Skripten ermöglichte erfindungsgemäß die Identifizierung neuer Tumor-Gene. Diese sind bisher als rein Organ-spezifisch eingestuft worden. Die Erkenntnis, dass diese Gene aberrant in Tumorzellen aktiviert werden, erlaubt, ihnen eine substantiell neue Qualität mit funktionellen Implikationen zuzuordnen. Die Identifizierung und Bereitstellung dieser Tumor-assoziierten Gene und der dadurch kodierten Genprodukte erfolgte erfindungsgemäß unabhängig von einer immunogenen Wirkung.

Die erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigene weisen eine Aminosäuresequenz auf, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NO: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist, (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert, (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist. In einer bevorzugten Ausführungsform weist ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen eine Aminosäuresequenz auf, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NO: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119 ausgewählt ist. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen eine Aminosäuresequenz, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NO: 9-19, 45-48, 60-66, 85, 90-97, 100-102, 105, 106, 111-116, 118, 120, 123, 124 und 135-137, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist.



Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein die Verwendung von erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigenen oder von Teilen oder Derivaten davon, von dafür kodierenden Nukleinsäuren oder von Nukleinsäuren, die gegen die kodierenden Nukleinsäuren gerichtet sind, oder von Antikörpern, die gegen die erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigene oder Teile oder Derivate davon gerichtet sind, für die Therapie und Diagnose. Diese Nutzung kann einzelne, aber auch Kombinationen von mehreren dieser Antigene, funktionalen Fragmente, Nukleinsäuren, Antikörper etc. betreffen, in einer Ausführungsform auch in Kombination mit anderen Tumor-assoziierten Genen und Antigenen für eine Diagnose, Therapie und Verlaufskontrolle.

Bevorzugte Erkrankungen für eine Therapie und/oder Diagnose sind solche, bei denen eine selektive Expression oder abnormale Expression von einem oder mehreren der erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigenen vorliegt.

Die Erfindung betrifft auch Nukleinsäuren und Genprodukte, die tumorzellassoziiert exprimiert werden.

Desweiteren betrifft die Erfindung Genprodukte, d.h. Nukleinsäuren und Proteine bzw. Peptide, die durch verändertes Spleißen (Spleißvarianten) bekannter Gene bzw. durch veränderte Translation unter Nutzung alternativer offener Leserahmen entstehen. In diesem Aspekt betrifft die Erfindung Nukleinsäuren, die eine Nukleinsäuresequenz ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus den Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 3-5 des Sequenzprotokolls umfassen. Außerdem betrifft die Erfindung in diesem Aspekt Proteine bzw. Peptide, die eine Aminosäuresequenz ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus den Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 10 und 12-14 des Sequenzprotokolls umfassen. Die erfindungsgemäßen Spleißvarianten sind erfindungsgemäß als Targets für die Diagnostik und Therapie von Tumorerkrankungen verwendbar.

Inbesondere betrifft die Erfindung die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO: 10 des Sequenzprotokolls, die durch einen erfindungsgemäß identifizierten alternativen offenen Leseraster kodiert wird und sich von der vorbeschriebenen Protein-Sequenz (SEQ ID NO: 9) durch 85 zusätzliche Aminosäuren am N-Terminus des Proteins unterscheidet.

Für die Entstehung von Spleißvarianten können verschiedenste Mechanismen ursächlich sein, beispielsweise

- die Nutzung variabler Transkriptionsinitiationsstellen,
  - die Nutzung zusätzlicher Exons,
  - 5 - das vollständige oder unvollständige Ausspleißen von einzelnen oder mehreren Exons,
  - durch Mutation veränderte Spleißregulatorsequenzen (Deletion bzw. Schaffung neuer Donor/Acceptorsequenzen),
  - die unvollständige Elimination von Intronsequenzen.
- 10 Das veränderte Spleißen eines Gens führt zu einer veränderten Transkriptsequenz (Spleißvariante). Wird eine Spleißvariante im Bereich ihrer veränderten Sequenz translatiert, resultiert ein verändertes Protein, welches sich von dem ursprünglichen in Struktur und Funktion deutlich unterscheiden kann. Bei Tumor-assoziierten Spleißvarianten können Tumor-assoziierte Transkripte und Tumor-assoziierte Proteine/Antigene entstehen. Diese
- 15 können als molekulare Marker sowohl zum Nachweis von Tumorzellen als auch zum therapeutischen Targeting von Tumoren genutzt werden. Die Detektion von Tumorzellen z.B. im Blut, Serum, Knochenmark, Sputum, Bronchial-Lavage, Körpersekreten und Gewebsbiopsien kann erfindungsgemäß z.B. nach Extraktion von Nukleinsäuren durch PCR-Amplifikation mit Spleißvarianten-spezifischen Oligonukleotiden erfolgen. Als
- 20 Oligonukleotide eignen sich insbesondere Paare von Primern, von denen mindestens einer unter stringenten Bedingungen an die Region der Spleißvariante bindet, die Tumor-assoziiert ist. Erfindungsgemäß geeignet sind die in den Beispielen für diesen Zweck beschriebenen Oligonukleotide, insbesondere Oligonukleotide, die eine Sequenz ausgewählt aus SEQ ID NO: 34-36, 39, 40 und 107-110 des Sequenzprotokolls aufweisen bzw. umfassen. Zum
- 25 Nachweis eignen sich erfindungsgemäß alle Sequenz-abhängigen Detektionssysteme. Neben der PCR sind diese z.B. Genchip-/Microarraysysteme, Northern-Blot, RNase protection assays (RDA) und andere. Allen Detektionssystemen ist gemeinsam, dass die Detektion auf einer spezifischen Hybridisierung mit mindestens einer Spleißvarianten-spezifischen Nukleinsäuresequenz basiert. Die Detektion von Tumorzellen kann jedoch auch
- 30 erfindungsgemäß durch Antikörper erfolgen, die ein durch die Spleißvariante kodierte spezifisches Epitop erkennen. Für die Herstellung der Antikörper können Peptide zur Immunisierung verwendet werden, die für diese Spleißvariante spezifisch sind. In diesem Aspekt betrifft die Erfindung insbesondere Peptide, die eine Sequenz ausgewählt aus SEQ ID NO: 17-19, 111-115, 120 und 137 des Sequenzprotokolls aufweisen bzw. umfassen und

dagegen gerichtete spezifische Antikörper. Für die Immunisierung eignen sich besonders die Aminosäuren, die deutliche Epitopunterschiede zu der (den) Variante(n) des Genprodukts aufweisen, welche(s) bevorzugt in gesunden Zellen gebildet wird (werden). Der Nachweis der Tumorzellen mit Antikörpern kann dabei an einer vom Patienten isolierten Probe oder als  
5 Imaging mit intravenös applizierten Antikörpern erfolgen. Neben der diagnostischen Nutzbarkeit stellen Spleißvarianten, die neue oder veränderte Epitope aufweisen, attraktive Targets für die Immuntherapie dar. Die erfindungsgemäßen Epitope können zum Targeting von therapeutisch wirksamen monoklonalen Antikörpern oder T-Lymphozyten genutzt werden. Bei der passiven Immuntherapie werden hierbei Antikörper oder T-Lymphozyten  
10 adoptiv transferriert, die Spleißvarianten-spezifische Epitope erkennen. Die Generierung von Antikörpern kann wie bei anderen Antigenen auch unter Nutzung von Standardtechnologien (Immunisierung von Tieren, Panningstrategien zur Isolation von rekombinanten Antikörpern) unter Nutzung von Polypeptiden, die diese Epitope beinhalten, erfolgen. Alternativ können zur Immunisierung Nukleinsäuren genutzt werden, die für Oligo- oder Polypeptide kodieren,  
15 die diese Epitope beinhalten. Verschiedene Techniken zur in vitro oder in vivo Generierung von epitopspezifischen T-Lymphozyten sind bekannt und ausführlich beschrieben (vgl. z.B. Kessler JH, et al. 2001, Sahin et al., 1997) und basieren ebenfalls auf der Nutzung von Oligo- oder Polypeptiden, die die Spleißvarianten-spezifischen Epitope beinhalten oder Nukleinsäuren, die für diese kodieren. Oligo- oder Polypeptiden, die die Spleißvarianten-  
20 spezifischen Epitope beinhalten, oder Nukleinsäuren, die für diese Polypeptide kodieren, sind auch als pharmazeutisch wirksame Substanzen bei der aktiven Immuntherapie (Vakzinierung, Vakzintherapie) verwendbar.

Erfindungsgemäß werden auch Proteine beschrieben, die sich durch Art und Menge ihrer  
25 sekundären Modifikationen in Normal- und Tumorgewebe unterscheiden (z.B. Durand & Seta, 2000; Clin. Chem. 46: 795-805; Hakomori, 1996; Cancer Res. 56: 5309-18).

Die Analyse von Proteinmodifikationen kann im Western-Blot erfolgen. Vor allem Glykosylierungen, die in der Regel eine Größe von mehreren kDa haben, führen zu einer  
30 größeren Gesamtmasse des Zielproteins, die sich in der SDS-PAGE auftrennen lässt. Zum Nachweis von spezifischen O- und N-glycosidischen Bindungen werden Proteinlysate vor der Denaturierung durch SDS mit O- oder N-Glykosylasen inkubiert (nach Angaben des jeweiligen Herstellers, z.B. PNGase, Endoglykosidase F, Endoglykosidase H, Roche Diagnostics). Anschließend erfolgt ein Western-Blot. Bei Verringerung der Größe eines

Zielproteins kann so nach Inkubation mit einer Glykosidase eine spezifische Glykosylierung nachgewiesen und auf diesem Weg auch die Tumorspezifität einer Modifikation analysiert werden. Von besonderem Interesse sind Proteinbereiche, die in Tumorzellen und gesunden Zellen differenziell glykosyliert sind. Derartige Glykosylierungsunterschiede sind jedoch  
5 bisher für wenige Zelloberflächenproteine (z.B. Muc1) beschrieben.

Erfindungsgemäß konnte für Claudin-18 eine differentielle Glykosylierung in Tumoren nachgewiesen werden. Gastrointestinale Karzinome, Pankreaskarzinome, Ösophagustumoren, Prostatatumoren als auch Lungentumoren weisen eine weniger glykosylierte Form von  
10 Claudin-18 auf. Die Glykosylierung in gesunden Geweben maskiert Proteinepitope von Claudin-18, die auf Tumorzellen aufgrund fehlender Glykosylierung freigelegt sind. Entsprechend lassen sich erfindungsgemäß Liganden und Antikörper selektieren, die an diese Domänen binden. Derartige Liganden und Antikörper binden erfindungsgemäß nicht an das Claudin-18 auf gesunden Zellen, da hier die Epitope durch die Glykosylierung verdeckt sind.

15 Ähnlich wie oben für von Tumor-assoziierten Spleißvarianten abgeleitete Proteinepitope beschrieben kann somit die differenzielle Glycosylierung zur Unterscheidung von Normal- und Tumorzellen mit diagnostischer wie auch therapeutischer Intention genutzt werden.

20 In einem Aspekt betrifft die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung umfassend ein Mittel, das das erfindungsgemäß identifizierte Tumor-assoziierte Antigen erkennt und vorzugsweise selektiv für Zellen ist, die eine Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens aufweisen. Das Mittel kann in bestimmten Ausführungsformen die Induktion des Zelltods, die Reduktion des  
25 Zellwachstums, die Schädigung der Zellmembran oder die Sekretion von Zytokinen bewirken und weist vorzugsweise eine tumorhemmende Aktivität auf. In einer Ausführungsform ist das Mittel eine Antisense-Nukleinsäure, die selektiv mit der Nukleinsäure hybridisiert, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert. In einer weiteren Ausführungsform ist das Mittel ein Antikörper, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet, insbesondere ein  
30 komplementaktivierter oder Toxin-konjugierter Antikörper, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet. In einer weiteren Ausführungsform umfasst das Mittel mehrere Mittel, die jeweils selektiv verschiedene Tumor-assoziierte Antigene erkennen, wobei mindestens eines der Tumor-assoziierten Antigene ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen ist. Die Erkennung muss nicht direkt mit einer Hemmung von

Aktivität oder Expression des Antigens einhergehen. In diesem Aspekt der Erfindung dient das selektiv auf Tumoren beschränkte Antigen vorzugsweise als Markierung zur Rekrutierung von Effektormechanismen an diesen spezifischen Ort. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Mittel ein cytotoxischer T-Lymphozyt, der das Antigen auf einem HLA-Molekül erkennt und die derartig markierte Zellen lysiert. In einer weiteren Ausführungsform ist das Mittel ein Antikörper, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet und somit natürliche oder artifizielle Effektormechanismen zu dieser Zelle rekrutiert. In einer weiteren Ausführungsform ist das Mittel ein T-Helfer-Lymphozyt, der Effektorfunktionen von anderen Zellen, die spezifisch dieses Antigen erkennen, stärkt.

10 In einem Aspekt betrifft die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung umfassend ein Mittel, das die Expression oder Aktivität eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens hemmt. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Mittel eine Antisense-Nukleinsäure, die selektiv mit der Nukleinsäure hybridisiert, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert. In einer weiteren Ausführungsform ist das Mittel ein Antikörper, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet. In einer weiteren Ausführungsform umfasst das Mittel mehrere Mittel, die jeweils selektiv die Expression oder Aktivität verschiedener Tumor-assoziiierter Antigene hemmen, wobei mindestens eines der Tumor-assoziierten Antigene ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen ist.

20 Des weiteren betrifft die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die ein Mittel umfasst, das bei einer Verabreichung selektiv die Menge an Komplexen zwischen einem HLA-Molekül und einem Peptidpitop aus dem erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigen erhöht. Das Mittel umfasst in einer Ausführungsform einen oder mehrere Bestandteile, die aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus (i) dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon, (ii) einer Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon kodiert, (iii) einer Wirtszelle, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimiert, und (iv) isolierten Komplexen zwischen Peptidpitopen aus dem Tumor-assoziierten Antigen und einem MHC-Molekül. In einer Ausführungsform umfasst das Mittel mehrere Mittel, die jeweils selektiv die Menge an Komplexen zwischen MHC-Molekülen und Peptidpitopen verschiedener Tumor-assoziiierter Antigene erhöhen, wobei mindestens eines der Tumor-assoziierten Antigene ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen ist.

Des weiteren betrifft die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die einen oder mehrer Bestandteile umfasst, die aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus (i) einem erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon, (ii) einer Nukleinsäure, die für ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon kodiert, (iii) einem Antikörper, der an ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon bindet, (iv) einer Antisense-Nukleinsäure, die spezifisch mit einer Nukleinsäure, die für ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen kodiert, hybridisiert, (v) einer Wirtszelle, die ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon exprimiert, und (vi) isolierten Komplexen zwischen einem erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem HLA-Molekül.

Eine Nukleinsäure, die für ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon kodiert, kann in der pharmazeutische Zusammensetzung in einem Expressionsvektor vorliegen und funktionell mit einem Promotor verbunden sein.

Eine in einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung enthaltene Wirtszelle kann das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon sekretieren, auf der Oberfläche exprimieren oder kann zusätzlich ein HLA-Molekül exprimieren, das an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon bindet. In einer Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle das HLA-Molekül endogen. In einer weiteren Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle das HLA-Molekül und/oder das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon rekombinant. Vorzugsweise ist die Wirtszelle nicht-proliferativ. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Wirtszelle eine Antigen-präsentierende Zelle, insbesondere eine dendritische Zelle, ein Monozyt oder ein Makrophage.

Ein in einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung enthaltener Antikörper kann ein monoklonaler Antikörper sein. In weiteren Ausführungsformen ist der Antikörper ein chimärer oder humanisierter Antikörper, ein Fragment eines natürlichen Antikörpers, oder ein synthetischer Antikörper, die alle durch kombinatorische Techniken hergestellt werden können. Der Antikörper kann mit einem therapeutisch oder diagnostisch nützlichen Mittel oder Stoff gekoppelt sein.

Eine in einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung enthaltene Antisense-Nukleinsäure kann eine Sequenz von 6-50, insbesondere 10-30, 15-30 oder 20-30 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure, die für das erfindungsgemäß identifizierte Tumor-assoziierte Antigen kodiert, umfassen.

5

In weiteren Ausführungsformen bindet ein durch eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung entweder direkt oder durch die Expression einer Nukleinsäure bereitgestelltes Tumor-assoziiertes Antigen oder ein Teil davon an MHC-Moleküle auf der Oberfläche von Zellen, wobei die Bindung vorzugsweise eine cytolytische Reaktion hervorruft und/oder eine Cytokinausschüttung induziert.

10

Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung kann einen pharmazeutisch verträglichen Träger und/oder ein Adjuvans umfassen. Das Adjuvans kann aus Saponin, GM-CSF, CpG-Nukleotiden, RNA, einem Cytokin oder einem Chemokin ausgewählt sein. Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung wird vorzugsweise zur Behandlung einer Erkrankung eingesetzt, die sich durch die selektive Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Erkrankung Krebs.

15

Des weiteren betrifft die Erfindung Verfahren zur Behandlung oder Diagnose einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines oder mehrerer Tumor-assoziierten Antigene auszeichnet. In einer Ausführungsform umfasst die Behandlung die Verabreichung einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung.

20

In einem Aspekt betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Diagnose einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet. Das Verfahren umfasst den Nachweis (i) einer Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teils davon und/oder (ii) den Nachweis des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon, und/oder (iii) den Nachweis eines Antikörpers gegen das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon und/oder (iv) den Nachweis von cytotoxischen oder Helfer-T-Lymphozyten, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon spezifisch sind in einer aus einem Patienten isolierten biologischen Probe. In bestimmten Ausführungsformen umfasst der Nachweis (i) die Kontaktierung der biologischen Probe mit einem Mittel, das spezifisch an die

30

Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder den Teil davon, an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon, an den Antikörper oder an cytotoxische oder Helfer-T-Lymphozyten, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder Teile davon spezifisch sind, bindet und (ii) den Nachweis der Komplexbildung zwischen dem Mittel und der Nukleinsäure oder dem Teil davon, dem Tumor-assoziierten Antigen oder dem Teil davon, dem Antikörper oder den cytotoxischen oder Helfer-T-Lymphozyten. In einer Ausführungsform zeichnet sich die Erkrankung durch die Expression oder abnormale Expression mehrerer verschiedener Tumor-assoziiierter Antigene aus und der Nachweis umfasst einen Nachweis mehrerer Nukleinsäuren, die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene kodieren, oder von Teilen davon, den Nachweis der mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder von Teilen davon, den Nachweis mehrerer Antikörper, die an die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder an Teile davon binden oder den Nachweis mehrerer cytotoxischer oder Helfer-T-Lymphozyten, die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene spezifisch sind. In einer weiteren Ausführungsform wird die isolierte biologische Probe aus dem Patienten mit einer vergleichbaren normalen biologischen Probe verglichen.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Bestimmung der Regression, des Verlaufs oder des Ausbruchs einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend die Überwachung einer Probe aus einem Patienten, der die Erkrankung aufweist oder in Verdacht steht, an der Erkrankung zu erkranken in Bezug auf einen oder mehrere Parameter, die aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus (i) der Menge der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teil davon, (ii) der Menge des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon, (iii) der Menge an Antikörpern, die an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon binden, und (iv) der Menge an cytolytischen T-Zellen oder Helfer-T-Zellen, die für einen Komplex zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem MHC-Molekül spezifisch sind. Vorzugsweise umfasst das Verfahren die Bestimmung des oder der Parameter zu einem ersten Zeitpunkt in einer ersten Probe und zu einem zweiten Zeitpunkt in einer weiteren Probe, wobei durch einen Vergleich der beiden Proben der Verlauf der Erkrankung ermittelt wird. In bestimmten Ausführungsformen zeichnet sich die Erkrankung durch die Expression oder abnormale Expression mehrerer verschiedener Tumor-assoziiierter Antigene aus und die Überwachung umfasst eine Überwachung (i) der Menge mehrerer Nukleinsäuren,



die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene kodieren, oder von Teilen davon und/oder (ii) der Menge der mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder von Teilen davon und/oder (iii) der Menge mehrerer Antikörper, die an die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder an Teile davon binden, und/oder (iv) der Menge mehrerer cytolytischer T-Zellen oder Helfer-T-Zellen, die für Komplexe zwischen den mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigenen oder von Teilen davon und MHC-Molekülen spezifisch sind.

Ein Nachweis einer Nukleinsäure oder eines Teils davon oder eine Überwachung der Menge einer Nukleinsäure oder eines Teils davon kann erfindungsgemäß mit einer Polynukleotid-Sonde erfolgen, die spezifisch mit der Nukleinsäure oder dem Teil davon hybridisiert, oder kann durch selektive Amplifikation der Nukleinsäure oder des Teils davon erfolgen. In einer Ausführungsform umfasst die Polynukleotid-Sonde eine Sequenz von 6-50, insbesondere 10-30, 15-30 oder 20-30 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure.

In bestimmten Ausführungsformen liegt das nachzuweisende Tumor-assoziierte Antigen oder der Teil davon intrazellulär oder auf der Zelloberfläche vor. Ein Nachweis eines Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon oder eine Überwachung der Menge eines Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon kann erfindungsgemäß mit einem Antikörper erfolgen, der spezifisch an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon bindet.

In weiteren Ausführungsformen liegt das nachzuweisende Tumor-assoziierte Antigen oder der Teil davon in einem Komplex mit einem MHC-Molekül, insbesondere einem HLA-Molekül vor.

Ein Nachweis eines Antikörpers oder die Überwachung der Menge an Antikörpern kann erfindungsgemäß mit einem Protein oder Peptid erfolgen, das spezifisch an den Antikörper bindet.

Ein Nachweis von cytolytischen T-Zellen oder Helfer-T-Zellen oder die Überwachung der Menge an cytolytischen T-Zellen oder Helfer-T-Zellen, die für Komplexe zwischen einem Antigen oder einem Teil davon und MHC-Molekülen spezifisch sind, kann erfindungsgemäß

mit einer Zelle erfolgen, die den Komplex zwischen dem Antigen oder dem Teil davon und einem MHC-Molekül präsentiert.

Die für einen Nachweis oder für eine Überwachung verwendete Polynukleotid-Sonde, der Antikörper, das Protein oder Peptid oder die Zelle sind vorzugsweise nachweisbar markiert. In bestimmten Ausführungsformen ist der nachweisbare Marker ein radioaktiver Marker oder ein Enzymmarker. Der Nachweis von T-Lymphozyten kann zusätzlich durch Nachweis ihrer Proliferation, ihrer Zytokinproduktion, sowie ihrer cytotoxischen Aktivität erfolgen, die durch die spezifische Stimulation mit dem Komplex aus MHC und Tumor-assoziiertem Antigen oder Teilen davon ausgelöst wird. Der Nachweis von T-Lymphozyten kann ferner durch ein rekombinantes MHC-Molekül oder auch einen Komplex aus mehreren MHC-Molekülen, die mit dem jeweiligen immunogenen Fragment aus einem oder mehreren der Tumor-assoziierten Antigene beladen sind, und durch Kontaktierung des spezifischen T-Zell-Rezeptors erfolgen, wodurch spezifische T-Lymphozyten identifiziert werden können.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Behandlung, Diagnose oder Überwachung einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend die Verabreichung eines Antikörpers, der an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon bindet und mit einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel oder Stoff gekoppelt ist. Der Antikörper kann ein monoklonaler Antikörper sein. In weiteren Ausführungsformen ist der Antikörper ein chimärer oder humanisierter Antikörper oder ein Fragment eines natürlichen Antikörpers.

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Behandlung eines Patienten mit einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend (i) die Entfernung einer Probe mit immunreaktiven Zellen aus dem Patienten, (ii) die Kontaktierung der Probe mit einer Wirtszelle, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimiert, unter Bedingungen, die eine Produktion cytolytischer T-Zellen gegen das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon begünstigen, und (iii) das Einbringen der cytolytischen T-Zellen in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, Zellen zu lysieren, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimieren. Die Erfindung betrifft ebenfalls die Klonierung des T-Zell-Rezeptors von cytolytischen T-Zellen gegen das Tumor-assoziierte

Antigen. Dieser kann in andere T-Zellen transferiert werden, die damit die erwünschte Spezifität erhalten und wie unter (iii) in den Patienten eingebracht werden können.

In einer Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle ein HLA-Molekül endogen. In einer weiteren Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle ein HLA-Molekül und/oder das Tumor-assozierte Antigen oder den Teil davon rekombinant. Vorzugsweise ist die Wirtszelle nicht-proliferativ. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Wirtszelle eine Antigen-präsentierende Zelle, insbesondere eine dendritische Zelle, ein Monozyt oder ein Makrophage.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Behandlung eines Patienten mit einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assozierten Antigens auszeichnet, umfassend (i) die Identifizierung einer für ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziertes Antigen kodierenden Nukleinsäure, die von Zellen exprimiert wird, die mit der Erkrankung assoziiert sind, (ii) die Transfektion einer Wirtszelle mit der Nukleinsäure oder einem Teil davon, (iii) die Kultivierung der transfizierten Wirtszelle für eine Expression der Nukleinsäure (dies ist bei Erreichen einer hohen Transfektionsrate nicht obligat), und (iv) das Einbringen der Wirtszellen oder eines Extrakts davon in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, die Immunreaktion gegen die Zellen des Patienten, die mit der Erkrankung assoziiert sind, zu erhöhen. Das Verfahren kann ferner die Identifizierung eines MHC-Moleküls, das das Tumor-assozierte Antigen oder einen Teil davon präsentiert, umfassen, wobei die Wirtszelle das identifizierte MHC-Molekül exprimiert und das Tumor-assozierte Antigen oder einen Teil davon präsentiert. Die Immunreaktion kann eine B-Zellen-Reaktion oder eine T-Zellen-Reaktion umfassen. Des weiteren kann eine T-Zellen-Reaktion die Produktion von cytolytischen T-Zellen und/oder Helfer-T-Zellen umfassen, die spezifisch für die Wirtszellen sind, die das Tumor-assozierte Antigen oder einen Teil davon präsentieren oder spezifisch für Zellen des Patienten sind, die das Tumor-assozierte Antigen oder einen Teil davon exprimieren.

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Behandlung einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assozierten Antigens auszeichnet, umfassend (i) die Identifikation von Zellen aus dem Patienten, die abnormale Mengen des Tumor-assozierten Antigens exprimieren, (ii) die Isolierung einer Probe der Zellen, (iii) die Kultivierung der Zellen und (iv) das Einbringen der

Zellen in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, eine Immunreaktion gegen die Zellen auszulösen.

Vorzugsweise sind die erfindungsgemäß verwendeten Wirtszellen nicht-proliferativ oder werden nicht-proliferativ gemacht. Eine Erkrankung, die sich durch die Expression oder  
5 abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, ist insbesondere Krebs.

Des weiteren betrifft die vorliegende Erfindung eine Nukleinsäure, die aus der Gruppe  
10 ausgewählt ist, bestehend aus (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NO: 3-5, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist, (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert, (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist, und (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter  
15 (a), (b) oder (c) komplementär ist. Des weiteren betrifft die Erfindung eine Nukleinsäure, die für ein Protein oder Polypeptid kodiert, das eine Aminosäuresequenz umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NO: 10 und 12-14, einem Teil oder Derivat davon.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung Promotorsequenzen von erfindungsgemäßen  
20 Nukleinsäuren. Diese können funktionell mit einem anderen Gen vorzugsweise in einem Expressionsvektor verbunden werden und somit die selektive Expression dieses Gens in entsprechenden Zellen gewährleisten.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein rekombinantes Nukleinsäuremolekül,  
25 insbesondere DNA- oder RNA-Molekül, das eine erfindungsgemäße Nukleinsäure umfasst.

Die Erfindung betrifft auch Wirtszellen, die eine erfindungsgemäße Nukleinsäure oder ein rekombinantes Nukleinsäuremolekül, das eine erfindungsgemäße Nukleinsäure umfasst, enthalten.

30 Die Wirtszelle kann ferner eine Nukleinsäure umfassen, die für ein HLA-Molekül kodiert. In einer Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle das HLA-Molekül endogen. In einer weiteren Ausführungsform exprimiert die Wirtszelle das HLA-Molekül und/oder die erfindungsgemäße Nukleinsäure oder einen Teil davon rekombinant. Vorzugsweise ist die

Wirtszelle nicht-proliferativ. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Wirtszelle eine Antigen-präsentierende Zelle, insbesondere eine dendritische Zelle, ein Monozyt oder ein Makrophage.

5 In einer weiteren Ausführungsform betrifft die Erfindung Oligonukleotide, die mit einer erfindungsgemäß identifizierten Nukleinsäure hybridisieren und als genetische Sonden oder als "Antisense"-Moleküle verwendet werden können. Nukleinsäuremoleküle in der Form von Oligonukleotid-Primern oder kompetenten Proben, die mit einer erfindungsgemäß identifizierten Nukleinsäure oder Teilen davon hybridisieren, können zum Auffinden von  
10 Nukleinsäuren verwendet werden, die zu der erfindungsgemäß identifizierten Nukleinsäure homolog sind. PCR-Amplifikation, Southern- und Northern-Hybridisierung können zum Auffinden homologer Nukleinsäuren eingesetzt werden. Die Hybridisierung kann unter niedrig-, besser unter mittel- und am besten unter hoch-stringenten Bedingungen erfolgen. Der Begriff „stringente Bedingungen“ betrifft erfindungsgemäß Bedingungen, die eine  
15 spezifische Hybridisierung zwischen Polynukleotiden erlauben.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein Protein, Polypeptid oder Peptid, das von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ  
20 ID NO: 3-5, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist, (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert, (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist, und (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist. In einer bevorzugten Ausführungsform betrifft die Erfindung ein Protein oder Polypeptid oder Peptid,  
25 das eine Aminosäuresequenz umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NO: 10 und 12-14, einem Teil oder Derivat davon.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein immunogenes Fragment eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens. Das Fragment bindet  
30 vorzugsweise an einen menschlichen HLA-Rezeptor oder menschlichen Antikörper. Vorzugsweise umfasst ein erfindungsgemäßes Fragment eine Sequenz von mindestens 6, insbesondere mindestens 8, mindestens 10, mindestens 12, mindestens 15, mindestens 20, mindestens 30 oder mindestens 50 Aminosäuren.

In diesem Aspekt betrifft die Erfindung insbesondere ein Peptid, das eine Sequenz, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NO: 17-19, 90-97, 100-102, 105, 106, 111-116, 120, 123, 124 und 135-137, einem Teil oder Derivat davon aufweist oder umfasst.

- 5 In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung ein Mittel, das an ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder an einen Teil davon bindet. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Mittel ein Antikörper. In weiteren Ausführungsformen ist der Antikörper ein chimärer, ein humanisierter oder mit kombinatorischen Techniken hergestellter Antikörper oder ein Fragment eines Antikörpers. Des weiteren betrifft die
- 10 Erfindung einen Antikörper, der selektiv an einen Komplex aus (i) einem erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und (ii) einem MHC-Molekül bindet, an das das erfindungsgemäß identifizierte Tumor-assoziierte Antigen oder der Teil davon bindet, wobei der Antikörper nicht alleine an (i) oder (ii) bindet. Ein erfindungsgemäßer Antikörper kann ein monoklonaler Antikörper sein. In weiteren
- 15 Ausführungsformen ist der Antikörper ein chimärer oder humanisierter Antikörper oder ein Fragment eines natürlichen Antikörpers.

Insbesondere betrifft die Erfindung ein solches Mittel, insbesondere einen Antikörper, das/der spezifisch an ein Peptid bindet, das eine Sequenz ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

20 SEQ ID NO: 17-19, 90-97, 100-102, 105, 106, 111-116, 120, 123, 124 und 135-137, einem Teil oder Derivat davon aufweist oder umfasst.

Des weiteren betrifft die Erfindung ein Konjugat zwischen einem erfindungsgemäßen Mittel, das an ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen oder an einen Teil

25 davon bindet, oder einem erfindungsgemäßen Antikörper und einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel oder Stoff. In einer Ausführungsform ist das therapeutische oder diagnostische Mittel ein Toxin.

In einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung einen Kit zum Nachweis der Expression oder

30 abnormalen Expression eines erfindungsgemäß identifizierten Tumor-assoziierten Antigens, umfassend Mittel zum Nachweis (i) der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teils davon, (ii) des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon, (iii) von Antikörpern, die an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon binden, und/oder (iv) von T-Zellen, die für einen Komplex zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen

oder einem Teil davon und einem MHC-Molekül spezifisch sind. In einer Ausführungsform sind die Mittel zum Nachweis der Nukleinsäure oder des Teils davon Nukleinsäuremoleküle für die selektive Amplifikation der Nukleinsäure, die insbesondere eine Sequenz von 6-50, insbesondere 10-30, 15-30 oder 20-30 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure umfassen.

### Detaillierte Beschreibung der Erfindung

Erfindungsgemäß werden Gene beschrieben, die in Tumorzellen selektiv exprimiert oder aberrant exprimiert werden und Tumor-assoziierte Antigene darstellen.

Erfindungsgemäß sind diese Gene und/oder deren Genprodukte und/oder ihre Derivate und/oder Teile bevorzugte Zielstrukturen für therapeutische Ansätze. Konzeptionell können die therapeutischen Ansätze auf eine Hemmung der Aktivität des selektiv exprimierten Tumor-assoziierten Genproduktes zielen. Dies ist dann sinnvoll, wenn die aberrante respektive selektive Expression funktionell von tumorpathogenetischer Bedeutung ist und ihre Unterbindung mit einer selektiven Schädigung der entsprechenden Zellen einhergeht. Andere therapeutische Konzepte betrachten Tumor-assoziierte Antigene als Markierungen, die Effektormechanismen mit zellschädigendem Potential selektiv zu Tumorzellen rekrutieren. Hierbei ist die Funktion des Zielmoleküls selbst und seine Rolle bei der Tumorentstehung vollkommen unerheblich.

Mit "Derivat" einer Nukleinsäure ist erfindungsgemäß gemeint, dass einzelne oder multiple Nukleotidsubstitutionen, -deletionen und/oder -additionen in der Nukleinsäure vorliegen.

Weiterhin umfasst der Begriff „Derivat“ auch eine chemische Derivatisierung einer Nukleinsäure an einer Nukleotidbase, am Zucker oder am Phosphat. Der Begriff „Derivat“ umfasst auch Nukleinsäuren, die nicht in der Natur vorkommende Nukleotide und Nukleotidanaloga enthalten.

Eine Nukleinsäure ist erfindungsgemäß vorzugsweise Desoxyribonukleinsäure (DNA) oder Ribonukleinsäure (RNA). Nukleinsäuren umfassen erfindungsgemäß genomische DNA, cDNA, mRNA, rekombinant hergestellte und chemisch synthetisierte Moleküle. Eine Nukleinsäure kann erfindungsgemäß als einzelsträngiges oder doppelsträngiges und lineares oder kovalent kreisförmig geschlossenes Molekül vorliegen.

Die erfindungsgemäß beschriebenen Nukleinsäuren sind vorzugsweise isoliert. Der Begriff "isolierte Nukleinsäure" bedeutet erfindungsgemäß, dass die Nukleinsäure (i) *in vitro* amplifiziert wurde, zum Beispiel durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR), (ii) rekombinant durch Klonierung produziert wurde, (iii) gereinigt wurde, zum Beispiel durch Spaltung und gelelektrophoretische Auftrennung, oder (iv) synthetisiert wurde, zum Beispiel durch chemische Synthese. Eine isolierte Nukleinsäure ist eine Nukleinsäure, die für eine Manipulierung durch rekombinante DNA-Techniken zur Verfügung steht.

Eine Nukleinsäure ist dann zu einer anderen Nukleinsäure „komplementär“, wenn die beiden Sequenzen miteinander hybridisieren und ein stabiles Duplex eingehen können, wobei die Hybridisierung vorzugsweise unter Bedingungen erfolgt, die eine spezifische Hybridisierung zwischen Polynukleotiden erlauben (stringente Bedingungen). Stringente Bedingungen sind beispielsweise in Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook et al., Hrsg., 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989 oder Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel et al., Hrsg., John Wiley & Sons, Inc., New York beschrieben und betreffen beispielsweise die Hybridisierung bei 65°C in Hybridisierungspuffer (3,5 x SSC, 0,02% Ficoll, 0,02% Polyvinylpyrrolidon, 0,02% Rinderserumalbumin, 2,5mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH7), 0,5% SDS, 2mM EDTA). SSC ist 0,15 M Natriumchlorid/ 0,15 M Natriumcitrat, pH 7. Nach der Hybridisierung wird die Membran, auf die die DNA übertragen wurde beispielsweise in 2 x SSC bei Raumtemperatur und sodann in 0,1 - 0,5 x SSC/ 0,1 x SDS bei Temperaturen bis 68°C gewaschen.

Komplementäre Nukleinsäuren weisen erfindungsgemäß mindestens 40%, insbesondere mindestens 50%, mindestens 60%, mindestens 70%, mindestens 80%, mindestens 90% und vorzugsweise mindestens 95%, mindestens 98% oder mindestens 99% Identität der Nukleotide auf.

Nukleinsäuren, die für Tumor-assoziierte Antigene kodieren, können erfindungsgemäß alleine oder in Kombination mit anderen Nukleinsäuren, insbesondere heterologen Nukleinsäuren, vorliegen. In bevorzugten Ausführungsformen liegt eine Nukleinsäure funktionell in Verbindung mit Expressionskontrollsequenzen oder regulatorischen Sequenzen vor, die in Bezug zu der Nukleinsäure homolog oder heterolog sein können. Eine kodierende Sequenz und eine regulatorische Sequenz sind dann "funktionell" miteinander verbunden, falls sie derart kovalent miteinander verknüpft sind, dass die Expression oder Transkription der



kodierenden Sequenz unter der Kontrolle oder unter dem Einfluss der regulatorischen Sequenz steht. Falls die kodierende Sequenz in ein funktionelles Protein translatiert werden soll, führt bei einer funktionellen Verbindung einer regulatorischen Sequenz mit der kodierenden Sequenz eine Induktion der regulatorischen Sequenz zu einer Transkription der kodierenden Sequenz, ohne dass es zu einer Leserasterverschiebung in der kodierenden Sequenz oder zu einem Unvermögen der kodierenden Sequenz kommt, in das gewünschte Protein oder Peptid translatiert zu werden.

Der Begriff „Expressionskontrollsequenz“ oder „regulatorische Sequenz“ umfasst erfindungsgemäß Promotoren, Enhancer und andere Kontrollelemente, die die Expression eines Gens steuern. In bestimmten erfindungsgemäßen Ausführungsformen sind die Expressionskontrollsequenzen regulierbar. Die genaue Struktur von regulatorischen Sequenzen kann speziesabhängig oder zelltypusabhängig variieren, umfasst jedoch im allgemeinen 5'-nicht-transkribierte und 5'-nicht-translatierte Sequenzen, die an der Initiation der Transkription bzw. Translation beteiligt sind wie TATA-Box, Capping-Sequenz, CAAT-Sequenz und ähnliches. Insbesondere umfassen 5'-nicht-transkribierte Regulationssequenzen eine Promotorregion, die eine Promotorsequenz für eine transkriptionelle Kontrolle des funktionell verbundenen Gens einschließt. Regulatorische Sequenzen können auch Enhancer-Sequenzen oder stromaufwärts gelegene Aktivatorsequenzen umfassen.

Zum einen können also die hier dargestellten Tumor-assoziierten Antigene mit beliebigen Expressionskontrollsequenzen und Promotoren kombiniert werden. Zum anderen aber können erfindungsgemäß die Promotoren der hier dargestellten Tumor-assoziierten Genprodukte mit beliebigen anderen Genen kombiniert werden. Dies erlaubt, die selektive Aktivität dieser Promotoren zu nutzen.

Des weiteren kann eine Nukleinsäure erfindungsgemäß in Verbindung mit einer anderen Nukleinsäure vorliegen, die für ein Polypeptid kodiert, das eine Sekretion des durch die Nukleinsäure kodierten Proteins oder Polypeptids aus einer Wirtszelle steuert. Auch kann eine Nukleinsäure erfindungsgemäß in Verbindung mit einer anderen Nukleinsäure vorliegen, die für ein Polypeptid kodiert, das eine Verankerung des kodierten Proteins oder Polypeptids auf der Zellmembran der Wirtszelle oder seine Kompartimentalisierung in bestimmte Organellen dieser Zelle herbeiführt. Gleichmaßen kann eine Verbindung mit einer Nukleinsäure erfolgen, die ein Reportergen oder einen beliebigen „Tag“ darstellt.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist ein rekombinantes DNA-Molekül erfindungsgemäß ein Vektor, gegebenenfalls mit einem Promotor, der die Expression einer Nukleinsäure, z.B. einer Nukleinsäure, die für eine erfindungsgemäße Tumor-assoziiertes Antigen kodiert, steuert. Der Begriff "Vektor" wird dabei in seiner allgemeinsten Bedeutung verwendet und umfasst jegliche intermediären Vehikel für eine Nukleinsäure, die es z.B. ermöglichen, die Nukleinsäure in prokaryotische und/oder in eukaryotische Zellen einzubringen und gegebenenfalls in ein Genom zu integrieren. Solche Vektoren werden vorzugsweise in der Zelle repliziert und/oder exprimiert. Ein intermediäres Vehikel kann z.B. für den Gebrauch bei der Elektroporation, beim Mikroprojektilbeschuss, bei der liposomalen Verabreichung, beim Transfer mit Hilfe von Agrobakterien oder bei der Insertion über DNA- oder RNA-Viren angepasst sein. Vektoren umfassen Plasmide, Phagemide oder Virusgenome.

Die Nukleinsäuren, die für ein erfindungsgemäß identifiziertes Tumor-assoziiertes Antigen kodieren, können für eine Transfektion von Wirtszellen eingesetzt werden. Mit Nukleinsäuren ist dabei sowohl rekombinante DNA wie auch RNA gemeint. Rekombinante RNA kann durch in vitro-Transkription von einer DNA-Matrize hergestellt werden. Sie kann des weiteren vor Applikation durch stabilisierende Sequenzen, Capping und Poly-Adenylierung modifiziert werden.

Der Begriff „Wirtszelle“ betrifft erfindungsgemäß jede Zelle, die mit einer exogenen Nukleinsäure transformierbar oder transfizierbar ist. Der Begriff „Wirtszellen“ umfasst erfindungsgemäß prokaryontische (z.B. *E. coli*) oder eukaryontische (z.B. dendritische Zellen, B-Zellen, CHO-Zellen, COS-Zellen, K562-Zellen, Hefezellen und Insektenzellen). Besonders bevorzugt sind Säugerzellen wie Zellen aus Mensch, Maus, Hamster, Schwein, Ziege, Primaten. Die Zellen können aus einer Vielzahl von Gewebetypen abgeleitet sein und umfassen primäre Zellen und Zelllinien. Spezifische Beispiele umfassen Keratinozyten, periphere Blutleukozyten, Stammzellen des Knochenmarks und embryonale Stammzellen. In weiteren Ausführungsformen ist die Wirtszelle eine Antigen-präsentierende Zelle, insbesondere eine dendritische Zelle, ein Monozyt oder ein Makrophage. Eine Nukleinsäure kann in der Wirtszelle in einer einzigen oder in mehreren Kopien vorliegen und wird in einer Ausführungsform in der Wirtszelle exprimiert.

Der Begriff "Expression" wird erfindungsgemäß in seiner allgemeinsten Bedeutung verwendet und umfasst die Produktion von RNA oder von RNA und Protein. Er umfasst auch

eine teilweise Expression von Nukleinsäuren. Des weiteren kann die Expression transient oder stabil erfolgen. Bevorzugte Expressionssysteme in Säugerzellen umfassen pcDNA3.1 und pRc/CMV (Invitrogen, Carlsbad, CA), die einen selektierbaren Marker enthalten wie ein Gen, das eine Resistenz gegenüber G418 verleiht (und somit eine Selektion stabil  
5 transfizierter Zelllinien ermöglicht) und die Enhancer-Promotor-Sequenzen von Cytomegalovirus (CMV).

In den Fällen der Erfindung, in denen ein HLA-Molekül ein Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon präsentiert, kann ein Expressionsvektor auch eine Nukleinsäuresequenz  
10 umfassen, die für das HLA-Molekül kodiert. Die Nukleinsäuresequenz, die für das HLA-Molekül kodiert, kann auf demselben Expressionsvektor wie die Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon kodiert, vorliegen oder beide Nukleinsäuren können auf verschiedenen Expressionsvektoren vorliegen. Im letzteren Fall können die beiden Expressionsvektoren in eine Zelle cotransfiziert werden. Falls eine Wirtszelle weder das  
15 Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon noch das HLA-Molekül exprimiert, werden beide dafür kodierenden Nukleinsäuren entweder auf demselben Expressionsvektor oder auf verschiedenen Expressionsvektoren in die Zelle transfiziert. Falls die Zelle bereits das HLA-Molekül exprimiert, kann nur die Nukleinsäuresequenz, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon kodiert, in die Zelle transfiziert werden.

20 Erfindungsgemäß umfasst sind Kits zur Amplifikation einer Nukleinsäure, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen kodiert. Solche Kits umfassen beispielsweise ein Paar von Amplifikationsprimern, die an die Nukleinsäure hybridisieren, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert. Die Primer umfassen vorzugsweise eine Sequenz von 6-50, insbesondere 10-  
25 30, 15-30 oder 20-30 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure und sind nicht-überlappend, um die Bildung von Primer-Dimeren zu vermeiden. Einer der Primer wird an einen Strang der Nukleinsäure hybridisieren, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, und der andere Primer wird an den komplementären Strang in einer Anordnung hybridisieren, die eine Amplifikation der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert,  
30 erlaubt.

"Antisense"-Moleküle oder „Antisense“-Nukleinsäuren können zur Regulierung, insbesondere der Reduktion der Expression einer Nukleinsäure verwendet werden. Der Begriff "Antisense-Molekül" oder "Antisense-Nukleinsäure" betrifft erfindungsgemäß ein

Oligonukleotid, das ein Oligoribonukleotid, Oligodesoxyribonukleotid, modifiziertes Oligoribonukleotid oder modifiziertes Oligodesoxyribonukleotid ist und das unter physiologischen Bedingungen an DNA, die ein bestimmtes Gen umfasst, oder mRNA dieses Gens hybridisiert, wodurch die Transkription dieses Gens und/oder die Translation dieser mRNA gehemmt wird. Ein "Antisense-Molekül" umfasst erfindungsgemäß auch ein  
5 Konstrukt, das eine Nukleinsäure oder einen Teil davon in reverser Orientierung in Bezug auf ihren natürlichen Promotor enthält. Ein Antisense-Transkript einer Nukleinsäure oder eines Teils davon kann eine Duplex mit der natürlich vorkommenden mRNA, die das Enzym spezifiziert, eingehen und so eine Akkumulation von oder die Translation der mRNA in das  
10 aktive Enzym verhindern. Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung von Ribozymen zur Inaktivierung einer Nukleinsäure. Bevorzugte erfindungsgemäße Antisense-Oligonukleotide weisen eine Sequenz von 6-50, insbesondere 10-30, 15-30 oder 20-30 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Ziel-Nukleinsäure auf und sind vorzugsweise vollständig zu der Ziel-Nukleinsäure oder einem Teil davon komplementär.

15

In bevorzugten Ausführungsformen hybridisiert das Antisense-Oligonukleotid mit einer N-terminalen oder 5'-stromaufwärts gelegenen Stelle wie einer Translationsinitiations-, Transkriptionsinitiations- oder Promotorstelle. In weiteren Ausführungsformen hybridisiert das Antisense-Oligonukleotid mit einer 3'-nicht-translatierten Region oder mRNA-Splicing-  
20 Stelle.

20

In einer Ausführungsform besteht ein erfindungsgemäßes Oligonukleotid aus Ribonukleotiden, Desoxyribonukleotiden oder einer Kombination davon. Dabei sind das 5'-Ende eines Nukleotids und das 3'-Ende eines anderen Nukleotids durch eine  
25 Phosphodiesterbindung miteinander verknüpft. Diese Oligonukleotide können in herkömmlicher Weise synthetisiert oder rekombinant produziert werden.

30

In bevorzugten Ausführungsformen ist ein erfindungsgemäßes Oligonukleotid ein "modifiziertes" Oligonukleotid. Dabei kann das Oligonukleotid, um beispielsweise seine  
Stabilität oder therapeutische Wirksamkeit zu erhöhen, auf verschiedenste Art und Weise modifiziert sein ohne dass seine Fähigkeit, an sein Ziel zu binden, beeinträchtigt wird. Der Begriff "modifiziertes Oligonukleotid" bedeutet erfindungsgemäß ein Oligonukleotid, bei dem (i) mindestens zwei seiner Nukleotide durch eine synthetische Internukleosidbindung (d.h. eine Internukleosidbindung, die keine Phosphodiesterbindung ist) miteinander verknüpft

sind und/oder (ii) eine chemische Gruppe kovalent mit dem Oligonukleotid verbunden ist, die normalerweise nicht bei Nukleinsäuren auftritt. Bevorzugte synthetische Internukleosidbindungen sind Phosphorothioate, Alkylphosphonate, Phosphorodithioate, Phosphatester, Alkylphosphonothioate, Phosphoramidate, Carbamate, Carbonate, Phosphattriester, Acetamidate, Carboxymethylester und Peptide.

Der Begriff "modifiziertes Oligonukleotid" umfasst auch Oligonukleotide mit einer kovalent modifizierten Base und/oder Zucker. "Modifizierte Oligonukleotide" umfassen beispielsweise Oligonukleotide mit Zuckerresten, die kovalent an organische Gruppen mit einem geringen Molekulargewicht gebunden sind, die keine Hydroxylgruppe an der 3'-Position und keine Phosphatgruppe an der 5'-Position sind. Modifizierte Oligonukleotide können beispielsweise einen 2'-O-alkylierten Riboserest oder einen anderen Zucker anstelle von Ribose wie Arabinose umfassen.

Die erfindungsgemäß beschriebenen Proteine und Polypeptide sind vorzugsweise isoliert. Die Begriffe "isoliertes Protein" oder "isoliertes Polypeptid" bedeuten, dass das Protein oder Polypeptid von seiner natürlichen Umgebung getrennt ist. Ein isoliertes Protein oder Polypeptid kann in einem im Wesentlichen aufgereinigten Zustand vorliegen. Der Begriff "im Wesentlichen aufgereinigt" bedeutet, dass das Protein oder Polypeptid im Wesentlichen frei von anderen Substanzen vorliegt, mit denen es in der Natur oder *in vivo* vorliegt.

Solche Proteine und Polypeptide dienen beispielsweise der Herstellung von Antikörpern und sind in einem immunologischen oder diagnostischen Assay oder als Therapeutika einsetzbar. Erfindungsgemäß beschriebene Proteine und Polypeptide können aus biologischen Proben wie Gewebe- oder Zellhomogenaten isoliert werden und können auch rekombinant in einer Vielzahl pro- oder eukaryontischer Expressionssysteme exprimiert werden.

„Derivate“ eines Proteins oder Polypeptids oder einer Aminosäuresequenz im Sinne dieser Erfindung umfassen Aminosäure-Insertionsvarianten, Aminosäure-Deletionsvarianten und/oder Aminosäure-Substitutionsvarianten.

Aminosäure-Insertionsvarianten umfassen amino- und/oder carboxyterminale Fusionen, sowie Insertionen von einzelnen oder mehreren Aminosäuren in einer bestimmten Aminosäuresequenz. Bei Aminosäure-Sequenzvarianten mit einer Insertion werden ein oder

mehrere Aminosäurereste in eine vorbestimmte Stelle in einer Aminosäuresequenz eingebracht, obwohl eine zufällige Insertion mit geeignetem Screening des resultierenden Produkts auch möglich ist. Aminosäure-Deletionsvarianten sind durch das Entfernen von einer oder mehreren Aminosäuren aus der Sequenz charakterisiert. Aminosäure-Substitutionsvarianten zeichnen sich dadurch aus, dass wenigstens ein Rest in der Sequenz entfernt und ein anderer Rest an dessen Stelle eingefügt wird. Vorzugsweise befinden sich die Modifikationen an Positionen in der Aminosäuresequenz, die zwischen homologen Proteinen oder Polypeptiden nicht konserviert sind. Vorzugsweise werden Aminosäuren durch andere mit ähnlichen Eigenschaften ersetzt, wie Hydrophobizität, Hydrophilizität, Elektronegativität, Volumen der Seitenkette und ähnliches (konservative Substitution). Konservative Substitutionen betreffen beispielsweise den Austausch einer Aminosäure durch eine andere, nachstehend in derselben Gruppe wie die substituierte Aminosäure aufgeführte Aminosäure:

1. kleine aliphatische, nicht-polare oder leicht-polare Reste: Ala, Ser, Thr (Pro, Gly)
  2. negativ geladene Reste und ihre Amide: Asn, Asp, Glu, Gln
  3. positiv geladene Reste: His, Arg, Lys
  4. große aliphatische, nicht-polare Reste: Met, Leu, Ile, Val (Cys)
  5. große aromatische Reste: Phe, Tyr, Trp.
- Drei Reste sind aufgrund ihrer besonderen Rolle für die Proteinarchitektur in Klammern gesetzt. Gly ist der einzige Rest ohne eine Seitenkette und verleiht der Kette somit Flexibilität. Pro besitzt eine ungewöhnliche Geometrie, die die Kette stark einschränkt. Cys kann eine Disulfidbrücke bilden.
- Die oben beschriebenen Aminosäure-Varianten können leicht mit Hilfe von bekannten Peptidsynthesetechniken wie z.B. durch „Solid Phase Synthesis“ (Merrifield, 1964) und ähnliche Verfahren oder durch rekombinante DNA-Manipulation hergestellt werden. Techniken, um Substitutionsmutationen an vorbestimmten Stellen in DNA einzubringen, die eine bekannte oder teilweise bekannte Sequenz besitzt, sind gut bekannt und umfassen z.B. M13-Mutagenese. Die Manipulation von DNA-Sequenzen zur Herstellung von Proteinen mit Substitutionen, Insertionen oder Deletionen ist z.B. in Sambrook et. al. (1989) ausführlich beschrieben.

„Derivate“ von Proteinen, Polypeptiden oder Peptiden umfassen erfindungsgemäß auch einzelne oder multiple Substitutionen, Deletionen und/oder Additionen jeglicher Moleküle, die mit dem Enzym assoziiert sind, wie Kohlenhydrate, Lipide und/oder Proteine, Polypeptide oder Peptide. Ferner erstreckt sich der Begriff „Derivat“ auch auf alle funktionellen chemischen Äquivalente der Proteine, Polypeptide oder Peptide.

Ein Teil oder Fragment eines Tumor-assoziierten Antigens weist erfindungsgemäß eine funktionelle Eigenschaft des Polypeptids auf, aus dem es abgeleitet ist. Solche funktionellen Eigenschaften umfassen die Interaktion mit Antikörpern, die Interaktion mit anderen Polypeptiden oder Proteinen, die selektive Bindung von Nukleinsäuren und eine enzymatische Aktivität. Eine bedeutende Eigenschaft ist die Fähigkeit, einen Komplex mit HLA einzugehen und gegebenenfalls eine Immunreaktion zu erzeugen. Diese Immunreaktion kann auf Stimulation von cytotoxischen oder Helfer T-Zellen beruhen. Vorzugsweise umfasst ein erfindungsgemäßer Teil oder Fragment eines Tumor-assoziierten Antigens eine Sequenz von mindestens 6, insbesondere mindestens 8, mindestens 10, mindestens 12, mindestens 15, mindestens 20, mindestens 30 oder mindestens 50 aufeinanderfolgenden Aminosäuren aus dem Tumor-assoziierten Antigen.

Ein Teil oder ein Fragment einer Nukleinsäure, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen kodiert, betrifft erfindungsgemäß den Teil der Nukleinsäure, der zumindest für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert und/oder für einen Teil oder ein Fragment des Tumor-assoziierten Antigens wie vorstehend definiert kodiert.

Die Isolierung und Identifizierung von Genen, die für Tumor-assoziierte Antigene kodieren, ermöglicht auch die Diagnose einer Erkrankung, die sich durch die Expression von einem oder mehreren Tumor-assoziierten Antigenen auszeichnet. Diese Verfahren umfassen die Bestimmung einer oder mehrerer Nukleinsäuren, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen kodieren, und/oder die Bestimmung der kodierten Tumor-assoziierten Antigene und/oder von davon abgeleiteten Peptiden. Eine Bestimmung der Nukleinsäure kann in herkömmlicher Weise erfolgen, einschließlich durch Polymerase-Kettenreaktion oder Hybridisierung mit einer markierten Sonde. Eine Bestimmung von Tumor-assoziierten Antigenen oder davon abgeleiteten Peptiden kann durch ein Screening von Patienten-Antisera in Bezug auf eine Erkennung des Antigens und/oder der Peptide erfolgen. Sie kann auch durch ein Screening

von T-Zellen des Patienten auf Spezifität für das entsprechende Tumor-assoziierte Antigen erfolgen.

Die vorliegende Erfindung ermöglicht auch die Isolierung von Proteinen, die an hier beschriebene Tumor-assoziierte Antigene binden, einschließlich Antikörper und zelluläre Bindepartner der Tumor-assoziierten Antigene.

Erfindungsgemäß werden auch in bestimmten Ausführungsformen "dominant negative" Polypeptide bereitgestellt, die von Tumor-assoziierten Antigenen abgeleitet sind. Ein dominant negatives Polypeptid ist eine inaktive Variante eines Proteins, die durch Interaktion mit der zellulären Maschinerie ein aktives Protein von seiner Interaktion mit der zellulären Maschinerie verdrängt oder mit dem aktiven Protein kompetitiert, wodurch die Wirkung des aktiven Proteins verringert wird. Zum Beispiel kann ein dominant negativer Rezeptor, der einen Liganden bindet, jedoch kein Signal in Reaktion auf die Bindung des Liganden erzeugt, die biologische Wirkung des Liganden verringern. In ähnlicher Weise kann eine dominant negative katalytisch-inaktive Kinase, die normalerweise mit Zielproteinen interagiert, jedoch die Zielproteine nicht phosphoryliert, die Phosphorylierung der Zielproteine in Reaktion auf ein zelluläres Signal verringern. In ähnlicher Weise kann ein dominant negativer Transkriptionsfaktor, der an eine Promotorstelle in der Kontrollregion eines Gens bindet, jedoch die Transkription des Gens nicht erhöht, die Wirkung eines normalen Transkriptionsfaktors durch die Besetzung von Promotorbindestellen ohne eine Erhöhung der Transkription verringern.

Das Ergebnis der Expression eines dominant negativen Polypeptids in einer Zelle ist eine Verringerung der Funktion aktiver Proteine. Der Fachmann kann dominant negative Varianten eines Proteins beispielsweise durch herkömmliche Mutageneseverfahren und Bewerten der dominant negativen Wirkung des Varianten-Polypeptids herstellen.

Erfindungsgemäß umfasst sind auch Stoffe wie Polypeptide, die an Tumor-assoziierte Antigene binden. Solche Bindestoffe können z.B. in Screening-Assays für einen Nachweis von Tumor-assoziierten Antigenen und Komplexen von Tumor-assoziierten Antigenen mit ihren Bindepartnern sowie bei einer Aufreinigung der Tumor-assoziierten Antigene und von Komplexen davon mit ihren Bindepartnern Verwendung finden. Solche Stoffe können auch



für eine Hemmung der Aktivität Tumor-assoziierten Antigene beispielsweise durch Bindung an solche Antigene Verwendung finden.

Erfindungsgemäß umfasst sind daher Bindestoffe wie z.B. Antikörper oder  
5 Antikörperfragmente, die die Fähigkeit aufweisen, selektiv an Tumor-assoziierte Antigene zu binden. Antikörper umfassen polyklonale und monoklonale Antikörper, die in herkömmlicher Weise hergestellt werden.

Solche Antikörper können Proteine in nativem und/oder denaturiertem Zustand erkennen  
10 (Anderson et al., *J. Immunol.* 143: 1899-1904, 1989; Gardsvoll, *J. Immunol. Methods* 234: 107-116, 2000; Kayyem et al., *Eur. J. Biochem.* 208: 1-8, 1992; Spiller et al., *J. Immunol. Methods* 224: 51-60, 1999).

Antisera, die spezifische Antikörper enthalten, die an das Zielprotein spezifisch binden,  
15 können über verschiedene Standardverfahren hergestellt werden; vgl. beispielsweise „Monoclonal Antibodies: A Practical Approach“ von Philip Shepherd, Christopher Dean ISBN 0-19-963722-9, „Antibodies: A Laboratory Manual“ von Ed Harlow, David Lane ISBN: 0879693142 und „Using Antibodies: A Laboratory Manual: Portable Protocol NO“ von Edward Harlow, David Lane, Ed Harlow ISBN: 0879695447. Dabei ist auch möglich,  
20 affine und spezifische Antikörper zu generieren, die komplexe Membranproteine in ihrer nativen Form erkennen (Azorsa et al., *J. Immunol. Methods* 229: 35-48, 1999; Anderson et al., *J. Immunol.* 143: 1899-1904, 1989; Gardsvoll, *J. Immunol. Methods* 234: 107-116, 2000). Dies ist vor allem für die Herstellung von Antikörpern von Bedeutung, die therapeutisch eingesetzt werden sollen, aber auch für viele diagnostische Anwendungen. Dazu kann sowohl  
25 mit dem gesamten Protein, mit extrazellulären Teilsequenzen, wie auch mit Zellen, die das Zielmolekül in physiologisch gefalteter Form exprimieren, immunisiert werden.

Monoklonale Antikörper werden traditionell mit Hilfe der Hybridoma-Technologie hergestellt  
(Technische Details: siehe „Monoclonal Antibodies: A Practical Approach“ von Philip  
30 Shepherd, Christopher Dean ISBN 0-19-963722-9; „Antibodies: A Laboratory Manual“ von Ed Harlow, David Lane ISBN: 0879693142, „Using Antibodies: A Laboratory Manual: Portable Protocol NO“ von Edward Harlow, David Lane, Ed Harlow ISBN: 0879695447).

Es ist bekannt, dass nur ein kleiner Teil eines Antikörpermoleküls, das Paratop, an der Bindung des Antikörpers an sein Epitop beteiligt ist (vgl. Clark, W.R. (1986), *The Experimental Foundations of Modern Immunology*, Wiley & Sons, Inc., New York; Roitt, I. (1991), *Essential Immunology*, 7. Auflage, Blackwell Scientific Publications, Oxford). Die pFc'- und Fc-Regionen sind z.B. Effektoren der Komplementkaskade, sind jedoch nicht an der Antigenbindung beteiligt. Ein Antikörper, von dem die pFc'-Region enzymatisch abgespalten wurde oder der ohne die pFc'-Region hergestellt wurde, bezeichnet als F(ab')<sub>2</sub>-Fragment, trägt beide Antigenbindestellen eines vollständigen Antikörpers. In ähnlicher Weise trägt ein Antikörper, von dem die Fc-Region enzymatisch abgespalten wurde oder der ohne die Fc-Region hergestellt wurde, bezeichnet als Fab-Fragment, eine Antigenbindestelle eines intakten Antikörpermoleküls. Des weiteren bestehen Fab-Fragmente aus einer kovalent gebundenen leichten Kette eines Antikörpers und einem Teil der schweren Kette des Antikörpers, bezeichnet als Fd. Die Fd-Fragmente sind die Haupt-Determinanten der Antikörper-Spezifität (ein einzelnes Fd-Fragment kann mit bis zu zehn verschiedenen leichten Ketten assoziiert werden, ohne die Spezifität des Antikörpers zu verändern) und Fd-Fragmente behalten bei einer Isolierung die Fähigkeit, an ein Epitop zu binden.

Innerhalb des Antigen-bindenden Teils eines Antikörpers befinden sich komplementaritätsbestimmende Regionen (CDRs), die direkt mit dem Epitop des Antigens wechselwirken, und Gerüstregionen (FRs), die die Tertiärstruktur des Paratops aufrechterhalten. Sowohl in dem Fd-Fragment der schweren Kette als auch in der leichten Kette von IgG-Immunglobulinen befinden sich vier Gerüstregionen (FR1 bis FR4), die jeweils durch drei komplementaritätsbestimmende Regionen (CDR1 bis CDR3) getrennt sind. Die CDRs und insbesondere die CDR3-Regionen und noch mehr die CDR3-Region der schweren Kette sind größtenteils für die Antikörper-Spezifität verantwortlich.

Man weiß, dass die Nicht-CDR-Regionen eines Säuger-Antikörpers durch ähnliche Regionen von Antikörpern mit der gleichen oder einer anderen Spezifität ersetzt werden können, wobei die Spezifität für das Epitop des ursprünglichen Antikörpers erhalten bleibt. Dies ermöglichte die Entwicklung sogenannter "humanisierter" Antikörper, bei denen nicht-menschliche CDRs kovalent mit menschlichen FR- und/oder Fc/pFc'-Regionen für die Herstellung eines funktionellen Antikörpers verbunden sind.

Dies nutzt die sogenannte „SLAM“-Technologie. Hierbei werden B-Zellen aus Vollblut isoliert und die Zellen monoklonalisiert. Anschließend wird der Überstand der vereinzelter B-Zelle auf ihre Antikörperspezifität hin analysiert. Im Gegensatz zur Hybridomatechnologie wird anschließend die variable Region des Antikörpergens durch eine Einzelzell-PCR amplifiziert und in einen geeigneten Vektor kloniert. Auf diese Art und Weise wird die Gewinnung von monoklonalen Antikörpern beschleunigt (de Wildt et al. J. Immunol. Methods 207:61-67, 1997).

Als anderes Beispiel beschreibt die WO 92/04381 die Herstellung und Verwendung von humanisierten RSV-Antikörpern aus Maus, bei denen mindestens ein Teil der FR-Regionen aus Maus durch FR-Regionen eines menschlichen Ursprungs ersetzt wurden. Solche Antikörper, einschließlich Fragmente intakter Antikörper mit einer Antigen-Bindfähigkeit werden oft als "chimäre" Antikörper bezeichnet.

Erfindungsgemäß werden auch  $F(ab')_2$ -, Fab-, Fv- und Fd-Fragmente von Antikörpern, chimäre Antikörper, bei denen die Fc- und/oder FR- und/oder CDR1- und/oder CDR2- und/oder leichte Kette-CDR3-Regionen durch homologe menschliche oder nicht-menschliche Sequenzen ersetzt wurden, chimäre  $F(ab')_2$ -Fragment-Antikörper, bei denen die FR- und/oder CDR1- und/oder CDR2- und/oder leichte Kette-CDR3-Regionen durch homologe menschliche oder nicht-menschliche Sequenzen ersetzt wurden, chimäre Fab-Fragment-Antikörper, bei denen die FR- und/oder CDR1- und/oder CDR2- und/oder leichte Kette-CDR3-Regionen durch homologe menschliche oder nicht-menschliche Sequenzen ersetzt wurden, und chimäre Fd-Fragment-Antikörper, bei denen die FR- und/oder CDR1- und/oder CDR2-Regionen durch homologe menschliche oder nicht-menschliche Sequenzen ersetzt wurden, bereitgestellt. Erfindungsgemäß umfasst sind auch sogenannte einzelkettige Antikörper.

Erfindungsgemäß umfasst sind auch Polypeptide, die spezifisch an Tumor-assoziierte Antigene binden. Beispielsweise können solche Polypeptid-Bindestoffe durch degenerierte Peptid-Bibliotheken bereitgestellt werden, die einfach in Lösung in einer immobilisierten Form oder als Phagen-Display-Bibliotheken hergestellt werden können. Kombinatorische Bibliotheken aus Peptiden mit einer oder mehreren Aminosäuren können ebenfalls hergestellt werden. Ferner können Bibliotheken aus Peptoiden und nicht-peptidischen synthetischen Resten hergestellt werden.

Phagen-Display kann besonders wirksam bei der Identifizierung erfindungsgemäßer Bindepeptide sein. Dabei wird beispielsweise eine Phagen-Bibliothek (durch Verwendung beispielsweise des m13-, fd- oder lambda-Phagen) hergestellt, die Inserts einer Länge von 4 bis etwa 80 Aminosäureresten präsentiert. Es werden sodann Phagen ausgewählt, die Inserts

5 tragen, die an das Tumor-assoziierte Antigen binden. Dieser Prozess kann über mehrere Zyklen einer Rückselektion von Phagen wiederholt werden, die an das Tumor-assoziierte Antigen binden. Wiederholte Runden führen zu einer Anreicherung von Phagen, die bestimmte Sequenzen tragen. Es kann eine Analyse von DNA-Sequenzen erfolgen, um die Sequenzen der exprimierten Polypeptide zu identifizieren. Der kleinste lineare Anteil der

10 Sequenz, der an das Tumor-assoziierte Antigen bindet, kann bestimmt werden. Das "two-hybrid-System" aus Hefe kann auch für die Identifizierung von Polypeptiden eingesetzt werden, die an ein Tumor-assoziiertes Antigen binden. Erfindungsgemäß beschriebene Tumor-assoziierte Antigene oder Fragmente davon können für ein Screening von Peptid-Bibliotheken, einschließlich Phagen-Display-Bibliotheken, eingesetzt werden, um Peptid-

15 Bindepartner der Tumor-assoziierten Antigene zu identifizieren und selektieren. Solche Moleküle können beispielsweise für Screening-Assays, Aufreinigungsprotokolle, für eine Interferenz mit der Funktion des Tumor-assoziierten Antigens und für andere Zwecke, die dem Fachmann bekannt sind, verwendet werden.

20 Die vorstehend beschriebenen Antikörper und andere Bindemoleküle können beispielsweise für die Identifizierung von Gewebe verwendet werden, das ein Tumor-assoziiertes Antigen exprimiert. Antikörper können auch an spezifische diagnostische Stoffe für eine Darstellung von Zellen und Geweben gekoppelt werden, die Tumor-assoziierte Antigene exprimieren. Sie können ferner an therapeutisch nützliche Stoffe gekoppelt werden. Diagnostische Stoffe

25 umfassen in nicht begrenzender Weise Bariumsulfat, Iocetaminsäure, Iopansäure, Calcium-Ipodat, Natrium-Diatrizoat, Meglumin-Diatrizoat, Metrizamid, Natrium-Tyropanoat und Radiodiagnostika, einschließlich Positronen-Emitter wie Fluor-18 und Kohlenstoff-11, gamma-Emitter wie Iod-123, Technetium-99m, Iod-131 und Indium-111, Nuklide für magnetische Kernresonanz wie Fluorin und Gadolinium. Der Begriff "therapeutisch

30 nützlicher Stoff" meint erfindungsgemäß jedes therapeutische Molekül, das wunschgemäß selektiv zu einer Zelle geführt wird, die ein oder mehrere Tumor-assoziierte Antigene exprimiert, einschließlich Antikrebsmittel, mit radioaktivem Iod versehene Verbindungen, Toxine, cytostatische oder cytolytische Arzneistoffe, usw. Antikrebsmittel umfassen beispielsweise Aminoglutethimid, Azathioprin, Bleomycinsulfat, Busulfan, Carmustin,

Chlorambucil, Cisplatin, Cyclophosphamid, Cyclosporin, Cytarabidin, Dacarbazin, Dactinomycin, Daunorubin, Doxorubicin, Taxol, Etoposid, Fluoruracil, Interferon- $\alpha$ , Lomustin, Mercaptopurin, Methotrexat, Mitotan, Procarbazin-HCl, Thioguanin, Vinblastinsulfat und Vincristinsulfat. Weitere Antikrebsmittel sind beispielsweise in  
5 Goodman und Gilman, "The Pharmacological Basis of Therapeutics", 8. Auflage, 1990, McGraw-Hill, Inc., insbesondere Kapitel 52 (Antineoplastic Agents (Paul Calabresi und Bruce A. Chabner)) beschrieben. Toxine können Proteine wie Pokeweed-antivirales Protein, Cholera-toxin, Pertussistoxin, Ricin, Gelonin, Abrin, Diphtherie-Exotoxin oder *Pseudomonas*-Exotoxin sein. Toxinreste können auch Hochenergie-emittierende Radionuklide wie Kobalt-  
10 60 sein.

Der Begriff "Patient" bedeutet erfindungsgemäß Mensch, nicht menschlicher Primat oder ein anderes Tier, insbesondere Säugetier wie Kuh, Pferd, Schwein, Schaf, Ziege, Hund, Katze oder Nagetier wie Maus und Ratte. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist der  
15 Patient ein Mensch.

Der Begriff "Erkrankung" betrifft erfindungsgemäß jeden pathologischen Zustand, bei dem Tumor-assoziierte Antigene exprimiert oder abnormal exprimiert werden. „Abnormale Expression“ bedeutet erfindungsgemäß, dass die Expression gegenüber dem Zustand bei  
20 einem gesunden Individuum verändert, vorzugsweise erhöht ist. Eine Erhöhung der Expression betrifft eine Erhöhung um mindestens 10%, insbesondere mindestens 20%, mindestens 50% oder mindestens 100%. In einer Ausführungsform wird das Tumor-assoziierte Antigen nur in Gewebe eines erkrankten Individuums exprimiert, während die Expression bei einem gesunden Individuum reprimiert ist. Ein Beispiel einer solchen  
25 Erkrankung ist Krebs, wobei der Begriff „Krebs“ erfindungsgemäß Leukämien, Seminome, Melanome, Teratome, Gliome, Nieren-, Nebennieren-, Schilddrüsen-, Darm-, Leber-, Colon-, Magen-, Gastrointestinal-, Lymphknoten-, Speiseröhren-, Kolorektal-, Pankreas-, Hals-, Nasen, Ohren (HNO)-, Brust-, Prostata-, Gebärmutter-, Ovarial-, und Lungenkrebs und deren Metastasen umfasst.

30 Eine biologische Probe kann erfindungsgemäß eine Gewebe- und/oder zelluläre Probe sein und kann für eine Verwendung in den verschiedenen, hier beschriebenen Verfahren in herkömmlicher Weise gewonnen werden, wie durch Gewebebiopsie, einschließlich

Stanzbiopsie, und Entnahme von Blut, Bronchialaspirat, Sputum, Urin, Fäces oder anderen Körperflüssigkeiten.

Der Begriff "immunreaktive Zelle" bedeutet erfindungsgemäß eine Zelle, die in eine Immunzelle (wie B-Zelle, T-Helferzelle oder cytolytische T-Zelle) bei geeigneter Stimulierung reifen kann. Immunreaktive Zellen umfassen CD34<sup>+</sup> hämatopoietische Stammzellen, unreife und reife T-Zellen sowie unreife und reife B-Zellen. Falls die Herstellung cytolytischer oder Helfer T-Zellen, die ein Tumor-assoziiertes Antigen erkennen, gewünscht ist, wird die immunreaktive Zelle mit einer Zelle, die ein Tumor-assoziiertes Antigen exprimiert, unter Bedingungen in Kontakt gebracht, die eine Produktion, Differenzierung und/oder Selektion von cytolytischen sowie Helfer T-Zellen begünstigen. Die Differenzierung von T-Zell-Vorläufern in eine cytolytische T-Zelle bei einer Exposition gegenüber einem Antigen ist ähnlich zur klonalen Selektion des Immunsystems.

Manche therapeutische Verfahren beruhen auf einer Reaktion des Immunsystems eines Patienten, die zu einer Lyse Antigen-präsentierender Zellen führt, wie Krebszellen, die ein oder mehrere Tumor-assoziierte Antigene präsentieren. Dabei werden beispielsweise autologe cytotoxische T-Lymphozyten, die für einen Komplex aus einem Tumor-assoziierten Antigen und einem MHC-Molekül spezifisch sind, an einen Patienten mit einer Zellabnormalie verabreicht. Die Produktion solcher cytotoxischer T-Lymphozyten *in vitro* ist bekannt. Ein Beispiel für ein Verfahren zur Differenzierung von T-Zellen findet sich in der WO-A-9633265. Im Allgemeinen wird eine Probe mit Zellen wie Blutzellen aus dem Patienten entnommen und die Zellen werden mit einer Zelle in Kontakt gebracht, die den Komplex präsentiert und eine Vermehrung von cytotoxischen T-Lymphozyten auslösen kann (z.B. dendritische Zellen). Die Zielzelle kann eine transfizierte Zelle wie eine COS-Zelle sein. Diese transfizierten Zellen präsentieren den gewünschten Komplex auf ihrer Oberfläche und stimulieren bei einer Kontaktierung mit cytotoxischen T-Lymphozyten deren Vermehrung. Die klonal expandierten autologen cytotoxischen T-Lymphozyten werden sodann an den Patienten verabreicht.

30

Bei einem anderen Verfahren zur Selektion Antigen-spezifischer cytotoxischer T-Lymphozyten werden fluorogene Tetramere von MHC-Klasse I-Molekül/Peptid-Komplexen für einen Nachweis spezifischer Klone von cytotoxischen T-Lymphozyten verwendet (Altman et al., *Science* 274:94-96, 1996; Dunbar et al., *Curr. Biol.* 8:413-416, 1998). Lösliche

MHC-Klasse I-Moleküle werden *in vitro* in Gegenwart von  $\beta_2$ -Mikroglobulin und eines Peptid-Antigens, das an das Klasse I-Molekül bindet, gefaltet. Nach Aufreinigung der MHC/Peptid-Komplexe werden diese mit Biotin markiert. Tetramere werden durch Mischen der biotinylierten Peptid-MHC-Komplexe mit markiertem Avidin (z.B. Phycoerythrin) bei  
5 einem molaren Verhältnis von 4:1 gebildet. Tetramere werden sodann mit cytotoxischen T-Lymphozyten wie peripherem Blut oder Lymphknoten in Kontakt gebracht. Die Tetramere binden an cytotoxische T-Lymphozyten, die den Peptid-Antigen/MHC-Klasse I-Komplex erkennen. Zellen, die an die Tetramere gebunden werden, können durch Fluoreszenz-gesteuerte Zellsortierung für eine Isolierung reaktiver cytotoxischer T-Lymphozyten sortiert  
10 werden. Die isolierten cytotoxischen T-Lymphozyten können sodann *in vitro* vermehrt werden.

Bei einem therapeutischen Verfahren, das als adoptiver Transfer bezeichnet wird (Greenberg, *J. Immunol.* 136(5):1917, 1986; Riddel et al., *Science* 257:238, 1992; Lynch et al., *Eur. J.*  
15 *Immunol.* 21:1403-1410, 1991; Kast et al., *Cell* 59:603-614, 1989), werden Zellen, die den gewünschten Komplex präsentieren (z.B. dendritische Zellen) mit cytotoxischen T-Lymphozyten des zu behandelnden Patienten kombiniert, was zu einer Vermehrung spezifischer cytotoxischer T-Lymphozyten führt. Die vermehrten cytotoxischen T-Lymphozyten werden sodann an einen Patienten mit einer zellulären Abnormalie verabreicht,  
20 die sich durch bestimmte abnormale Zellen auszeichnet, die den spezifischen Komplex präsentieren. Die cytotoxischen T-Lymphozyten lysieren sodann die abnormalen Zellen, wodurch eine gewünschte therapeutische Wirkung erreicht wird.

Oft lassen sich aus dem T-Zell-Repertoire eines Patienten lediglich niedrig-affine T-Zellen  
25 gegen einen solchen spezifischen Komplex vermehren, da die hochaffinen durch Toleranzentwicklung ausgelöscht worden sind. Eine Alternative kann hier ein Transfer des T-Zell-Rezeptors selbst sein. Hierfür werden ebenfalls Zellen, die den gewünschten Komplex präsentieren (z.B. dendritische Zellen) mit cytotoxischen T-Lymphozyten von gesunden Personen oder von einer anderen Spezies (z.B. Maus) kombiniert. Dies führt zu einer  
30 Vermehrung hochaffiner spezifischer cytotoxischer T-Lymphozyten, wenn die T-Lymphozyten aus einem Spenderorganismus kommen, der mit dem spezifischen Komplex bisher keinen Kontakt hatte. Der hochaffine T-Zell-Rezeptor aus diesen vermehrten spezifischen T-Lymphozyten wird kloniert. Wurden die hochaffinen T-Zellrezeptoren aus einer anderen Spezies kloniert, können diese in unterschiedlichem Ausmaß humanisiert

werden. Durch Gentransfer z.B. mit retroviralen Vektoren werden solche T-Zell-Rezeptoren dann beliebig in T-Zellen von Patienten transduziert. Adoptiver Transfer erfolgt dann mit diesen genetisch veränderten T-Lymphozyten (Stanislowski et al., Nat Immunol. 2:962-70, 2001 ; Kessels et al., Nat Immunol. 2:957-61, 2001).

5

Die vorstehenden therapeutischen Aspekte gehen davon aus, dass zumindest manche der abnormalen Zellen des Patienten einen Komplex aus einem Tumor-assoziierten Antigen und einem HLA-Molekül präsentieren. Eine Identifizierung solcher Zellen kann in an sich bekannter Weise erfolgen. Sobald Zellen, die den Komplex präsentieren, identifiziert wurden, können sie mit einer Probe aus dem Patienten, die cytotoxische T-Lymphozyten enthält, kombiniert werden. Falls die Zellen, die den Komplex präsentieren, durch die cytotoxischen T-Lymphozyten lysiert werden, kann angenommen werden, dass ein Tumor-assoziiertes Antigen präsentiert wird.

10

15

Der adoptive Transfer ist nicht die einzige Therapieform, die erfindungsgemäß anwendbar ist. Cytotoxische T-Lymphozyten können auch *in vivo* in an sich bekannter Weise erzeugt werden. Bei einem Verfahren werden nicht-proliferative Zellen verwendet, die den Komplex exprimieren. Die Zellen, die dabei verwendet werden, werden diejenigen sein, die normalerweise den Komplex exprimieren, wie bestrahlte Tumorzellen oder Zellen, die mit einem oder beiden Genen transfiziert wurden, die für eine Präsentation des Komplexes notwendig sind (d.h. das antigene Peptid und das präsentierende HLA-Molekül). Verschiedene Zelltypen können eingesetzt werden. Des weiteren können Vektoren verwendet werden, die eines oder beide der interessierenden Gene tragen. Virale oder bakterielle Vektoren sind besonders bevorzugt. Zum Beispiel können Nukleinsäuren, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon kodieren, funktionell mit Promotor- und Enhancersequenzen verknüpft werden, die eine Expression des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Fragments davon in bestimmten Geweben oder Zelltypen steuern. Die Nukleinsäure kann in einen Expressionsvektor eingebaut werden. Expressionsvektoren können nicht-modifizierte extrachromosomale Nukleinsäuren, Plasmide oder virale Genome sein, in die eine Insertion exogener Nukleinsäuren möglich ist. Nukleinsäuren, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen kodieren, können auch in ein retrovirales Genom inseriert werden, wodurch die Integration der Nukleinsäure in das Genom des Zielgewebes oder der Zielzelle ermöglicht wird. Bei diesen Systemen trägt ein Mikroorganismus wie Vacciniavirus, Poxvirus, Herpes simplex-Virus, Retrovirus oder Adenovirus das interessierende Gen und

20

25

30



"infiziert" de facto Wirtszellen. Eine weitere bevorzugte Form ist die Einbringung des Tumor-assoziierten Antigenes in Form von rekombinanter RNA. Diese kann z.B. durch liposomalen Transfer oder durch Elektroporation in Zellen eingebracht werden. Die resultierenden Zellen präsentieren den interessierenden Komplex und werden von autologen cytotoxischen T-Lymphozyten erkannt, die sich sodann vermehren.

Eine ähnliche Wirkung kann durch Kombination des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Fragments davon mit einem Adjuvans erreicht werden, um einen Einbau in Antigen-präsentierende Zellen *in vivo* zu ermöglichen. Das Tumor-assoziierte Antigen oder ein Fragment davon können als Protein, als DNA (z.B. innerhalb eines Vektors) oder als RNA repräsentiert sein. Das Tumor-assoziierte Antigen wird prozessiert, um einen Peptidpartner für das HLA-Molekül zu ergeben, während ein Fragment davon präsentiert werden kann, ohne dass eine weitere Prozessierung erforderlich ist. Letzteres ist insbesondere der Fall, wenn diese an HLA-Moleküle binden können. Verabreichungsformen, bei denen das Gesamt-Antigen *in vivo* von einer dendritischen Zelle prozessiert wird, sind bevorzugt, da hier auch Helfer T-Zell-Antworten entstehen können. Eine effektive Immunantwort benötigt diese (Ossendorp et al., *Immunol Lett.* 74:75-9, 2000; Ossendorp et al., *J. Exp. Med.* 187:693-702, 1998). Im Allgemeinen kann eine wirksame Menge des Tumor-assoziierten Antigens an einen Patienten z.B. durch eine intradermale Injektion verabreicht werden. Die Injektion kann aber auch intranodal in einen Lymphknoten erfolgen (Maloy et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 98:3299-303, 2001). Sie kann auch in Kombination mit Reagenzien erfolgen, die eine Aufnahme in dendritische Zellen erleichtern. Bevorzugte Tumor-assoziierte Antigene umfassen diejenigen, die mit allogenen Krebs-Antiseren oder mit T-Zellen vieler Krebs-Patienten reagieren. Von besonderem Interesse sind aber auch solche, gegen die keine spontanen Immunantworten vorbestehen. Gegen diese können nachweislich Immunantworten induziert werden, die Tumoren lysieren können (Keogh et al., *J Immunol.* 167:787-96, 2001; Appella et al., *Biomed Pept Proteins Nucleic Acids* 1:177-84, 1995; Wentworth et al., *Mol Immunol.* 32:603-12, 1995).

Die erfindungsgemäß beschriebenen pharmazeutischen Zusammensetzungen können auch als Vakzinen für die Immunisierung eingesetzt werden. Die Begriffe "Immunisierung" oder „Vakzinierung“ bedeuten erfindungsgemäß eine Erhöhung oder Aktivierung einer Immunreaktion gegenüber einem Antigen. Tiermodelle können zum Testen einer immunisierenden Wirkung gegenüber Krebs durch Verwendung eines Tumor-assoziierten

Antigens oder einer dafür kodierenden Nukleinsäure eingesetzt werden. Zum Beispiel können menschliche Krebszellen in eine Maus für die Schaffung eines Tumors eingebracht werden und eine oder mehrere Nukleinsäuren, die für Tumor-assoziierte Antigene kodieren, können verabreicht werden. Die Wirkung auf die Krebszellen (beispielsweise Verringerung der Tumorgroße) kann als Maß für die Wirksamkeit einer Immunisierung durch die Nukleinsäure gemessen werden.

Als Teil der Zusammensetzung für eine Immunisierung werden eines oder mehrere Tumor-assoziierte Antigene oder stimulierende Fragmente davon mit einem oder mehreren Adjuvantien für eine Induktion einer Immunreaktion oder eine Erhöhung einer Immunreaktion verabreicht. Ein Adjuvans ist eine Substanz, die in das Antigen eingebaut oder gemeinsam mit diesem verabreicht wird und die Immunreaktion verstärkt. Adjuvantien können die Immunreaktion durch Bereitstellen eines Antigen-Reservoirs (extrazellulär oder in Makrophagen), Aktivierung von Makrophagen und/oder Stimulierung bestimmter Lymphozyten verstärken. Adjuvantien sind bekannt und umfassen in nicht begrenzender Weise Monophosphoryl-Lipid-A (MPL, SmithKline Beecham), Saponine wie QS21 (SmithKline Beecham), DQS21 (SmithKline Beecham; WO 96/33739), QS7, QS17, QS18 und QS-L1 (So et al., Mol. Cells 7:178-186, 1997), unvollständiges Freundesches Adjuvans, vollständiges Freundesches Adjuvans, Vitamin E, Montanid, Alaun, CpG-Oligonukleotide (vgl. Kreig et al., Nature 374:546-9, 1995) und verschiedene Wasser-in-Öl-Emulsionen, die aus biologisch abbaubaren Ölen wie Squalen und/oder Tocopherol hergestellt werden. Vorzugsweise werden die Peptide in einer Mischung mit DQS21/MPL verabreicht. Das Verhältnis von DQS21 zu MPL beträgt typischerweise etwa 1:10 bis 10:1, vorzugsweise etwa 1:5 bis 5:1 und insbesondere etwa 1:1. Für eine Verabreichung an den Menschen sind DQS21 und MPL typischerweise in einer Vakzine-Formulierung in einem Bereich von etwa 1 µg bis etwa 100 µg vorhanden.

Andere Stoffe, die eine Immunreaktion des Patienten stimulieren, können auch verabreicht werden. Zum Beispiel sind Cytokine bei einer Vakzinierung aufgrund ihrer regulatorischen Eigenschaften auf Lymphozyten verwendbar. Solche Cytokine umfassen z.B. Interleukin-12 (IL-12), von dem gezeigt wurde, dass es die schützenden Wirkungen von Vakzinen verstärkt (vgl. Science 268:1432-1434, 1995), GM-CSF und IL-18.

Es gibt eine Reihe von Verbindungen, die eine Immunreaktion verstärken und die daher bei einer Vakzinierung eingesetzt werden können. Diese umfassen co-stimulierende Moleküle, die in Form von Proteinen oder Nukleinsäuren bereitgestellt werden. Solche co-stimulierenden Moleküle sind beispielsweise B7-1 und B7-2 (CD80 bzw. CD86), die auf dendritischen Zellen (DC) exprimiert werden und mit dem auf den T-Zellen exprimierten CD28-Molekül interagieren. Diese Interaktion stellt eine Co-Stimulierung (Signal 2) für eine Antigen/MHC/TCR-stimulierte (Signal 1) T-Zelle bereit, wodurch die Vermehrung der T-Zelle und die Effektorfunktion verstärkt wird. B7 interagiert auch mit CTLA4 (CD152) auf T-Zellen und Untersuchungen, die CTLA4- und B7-Liganden einbeziehen, zeigen, dass die B7-CTLA4-Interaktion eine Antitumor-Immunität und CTL-Vermehrung verstärken kann (Zheng, P. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95(11):6284-6289 (1998)).

B7 wird typischerweise nicht auf Tumorzellen exprimiert, so dass diese keine wirksamen Antigen-präsentierenden Zellen (APCs) für T-Zellen sind. Eine Induktion der B7-Expression würde ermöglichen, dass Tumorzellen wirksamer eine Vermehrung von cytotoxischen T-Lymphozyten und eine Effektorfunktion stimulieren. Eine Co-Stimulierung durch eine Kombination von B7/IL-6/IL-12 zeigte eine Induktion des IFN-gamma- und Th1-Cytokin-Profiles in einer T-Zell-Population, was zu einer weiter verstärkten T-Zell-Aktivität führt (Gajewski et al., *J. Immunol.* 154:5637-5648 (1995)).

Eine vollständige Aktivierung von cytotoxischen T-Lymphozyten und eine vollständige Effektorfunktion erfordert eine Mitwirkung von T-Helferzellen durch die Interaktion zwischen dem CD40-Liganden auf den T-Helferzellen und dem CD40-Molekül, das von dendritischen Zellen exprimiert wird (Ridge et al., *Nature* 393:474 (1998), Bennett et al., *Nature* 393:478 (1998), Schönberger et al., *Nature* 393:480 (1998)). Der Mechanismus dieses co-stimulierenden Signals betrifft wahrscheinlich die Steigerung der B7- und assoziierten IL-6/IL-12-Produktion durch die dendritischen Zellen (Antigen-präsentierenden Zellen). Die CD40-CD40L-Interaktion komplementiert so die Interaktionen des Signals 1 (Antigen/MHC-TCR) und des Signals 2 (B7-CD28).

Die Verwendung von anti-CD40-Antikörpern für eine Stimulierung von dendritischen Zellen würde erwartungsgemäß direkt eine Reaktion gegenüber Tumor-Antigenen verstärken, die normalerweise außerhalb des Bereichs einer entzündlichen Reaktion liegen oder von nicht-professionellen Antigen-präsentierenden Zellen (Tumorzellen) präsentiert werden. In diesen

Situationen werden T-Helfer- und B7-co-stimulierende Signale nicht bereitgestellt. Dieser Mechanismus könnte im Zusammenhang mit Therapien verwendet werden, die auf Antigen-gepulsten dendritischen Zellen basieren.

- 5 Erfindungsgemäß vorgesehen ist auch eine Verabreichung von Nukleinsäuren, Polypeptiden oder Peptiden. Eine Verabreichung von Polypeptiden und Peptiden kann in an sich bekannter Weise erfolgen. In einer Ausführungsform erfolgt die Verabreichung von Nukleinsäuren durch *ex vivo*-Verfahren, d.h. durch Entfernung von Zellen aus einem Patienten, genetische Veränderung der Zellen, um ein Tumor-assoziiertes Antigen einzubauen, und
- 10 Wiedereinbringung der veränderten Zellen in den Patienten. Dies umfasst im Allgemeinen das Einbringen einer funktionellen Kopie eines Gens in die Zellen eines Patienten *in vitro* und die Rückführung der genetisch veränderten Zellen in den Patienten. Die funktionelle Kopie des Gens steht unter funktioneller Kontrolle von regulatorischen Elementen, die eine Expression des Gens in den genetisch veränderten Zellen erlauben. Transfektions- und
- 15 Transduktionsverfahren sind dem Fachmann bekannt. Erfindungsgemäß vorgesehen ist auch eine Verabreichung von Nukleinsäuren *in vivo* durch die Verwendung von Vektoren wie Viren und zielgesteuerten Liposomen.

- In einer bevorzugten Ausführungsform ist ein viraler Vektor für die Verabreichung einer
- 20 Nukleinsäure, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen kodiert, aus der Gruppe ausgewählt bestehend aus Adenoviren, Adeno-assoziierten Viren, Poxviren, einschließlich Vacciniavirus und attenuierten Poxviren, Semliki-Forest-Virus, Retroviren, Sindbis-Virus und Ty-Virus-ähnlichen Partikeln. Besonders bevorzugt sind Adenoviren und Retroviren. Die Retroviren sind üblicherweise replikationsdefizient (d.h. sie sind unfähig, infektiöse Partikel zu
- 25 erzeugen).

- Verschiedene Verfahren können eingesetzt werden, um erfindungsgemäß Nukleinsäuren in Zellen *in vitro* oder *in vivo* einzubringen. Solche Verfahren umfassen die Transfektion von Nukleinsäure-CaPO<sub>4</sub>-Präzipitaten, die Transfektion von Nukleinsäuren, die mit DEAE
- 30 assoziiert sind, die Transfektion oder Infektion mit den vorstehenden Viren, die die interessierenden Nukleinsäuren tragen, die Liposomen-vermittelte Transfektion und ähnliches. In bestimmten Ausführungsformen ist eine Steuerung der Nukleinsäure an bestimmte Zellen bevorzugt. In solchen Ausführungsformen kann ein Träger, der für die Verabreichung einer Nukleinsäure an eine Zelle (z.B. ein Retrovirus oder ein Liposom)

eingesetzt wird, ein gebundenes Zielsteuerungsmolekül aufweisen. Zum Beispiel kann ein Molekül wie ein Antikörper, der für ein Oberflächenmembran-Protein auf der Zielzelle spezifisch ist, oder ein Ligand für einen Rezeptor auf der Zielzelle in den Nukleinsäureträger eingebaut oder daran gebunden werden. Bevorzugte Antikörper umfassen Antikörper, die  
5 selektiv ein Tumor-assoziiertes Antigen binden. Falls eine Verabreichung einer Nukleinsäure durch Liposomen erwünscht ist, können Proteine, die an ein Oberflächenmembran-Protein binden, das mit der Endozytose assoziiert ist, in die Liposomenformulierung eingebaut werden, um eine Zielsteuerung und/oder Aufnahme zu ermöglichen. Solche Proteine umfassen Kapsid-Proteine oder Fragmente davon, die für einen bestimmten Zelltyp spezifisch  
10 sind, Antikörper gegen Proteine, die internalisiert werden, Proteine, die eine intrazelluläre Stelle ansteuern, und ähnliches.

Die erfindungsgemäßen therapeutischen Zusammensetzungen können in pharmazeutisch verträglichen Zubereitungen verabreicht werden. Solche Zubereitungen können gewöhnlich  
15 pharmazeutisch verträgliche Konzentrationen von Salzen, Pufferstoffen, Konservierungstoffen, Trägern, ergänzenden immunitätssteigernden Stoffen wie Adjuvanzen, CpG und Cytokinen und gegebenenfalls andere therapeutische Wirkstoffe enthalten.

20 Die erfindungsgemäßen therapeutischen Wirkstoffe können auf jedem herkömmlichen Weg verabreicht werden, einschließlich durch Injektion oder durch Infusion. Die Verabreichung kann beispielsweise oral, intravenös, intraperitoneal, intramuskulär, subkutan oder transdermal erfolgen. Eine therapeutische Verabreichung von Antikörpern erfolgt vorzugsweise durch ein Lungenaerosol. Die Verabreichung von Antisense-Nukleinsäuren  
25 erfolgt vorzugsweise durch langsame intravenöse Verabreichung.

Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen werden in wirksamen Mengen verabreicht. Eine "wirksame Menge" betrifft die Menge, die alleine oder zusammen mit weiteren Dosen eine gewünschte Reaktion oder eine gewünschte Wirkung erzielt. Im Fall einer Behandlung einer  
30 bestimmten Erkrankung oder eines bestimmten Zustands, der sich durch die Expression eines oder mehrerer Tumor-assoziiierter Antigene auszeichnet, betrifft die gewünschte Reaktion die Hemmung des Krankheitsverlaufs. Dies umfasst die Verlangsamung des Fortschreitens der Erkrankung und insbesondere eine Unterbrechung des Fortschreitens der Erkrankung. Die gewünschte Reaktion bei einer Behandlung einer Krankheit oder eines Zustands kann auch

die Verzögerung des Ausbruchs oder eine Verhinderung des Ausbruchs der Krankheit oder des Zustands sein.

Eine wirksame Menge einer erfindungsgemäßen Zusammensetzung wird von dem zu behandelnden Zustand, der Schwere der Krankheit, den individuellen Parametern des Patienten, einschließlich Alter, physiologischer Zustand, Größe und Gewicht, der Dauer der Behandlung, der Art einer begleitenden Therapie (falls vorhanden), dem spezifischen Verabreichungsweg und ähnlichen Faktoren abhängen.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen sind vorzugsweise steril und enthalten eine wirksame Menge der therapeutisch wirksamen Substanz für die Erzeugung der gewünschten Reaktion oder der gewünschten Wirkung.

Die Dosen der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen, die verabreicht werden, können von verschiedenen Parametern wie der Verabreichungsart, dem Zustand des Patienten, dem gewünschten Verabreichungszeitraum, usw. abhängen. Für den Fall, dass eine Reaktion bei einem Patienten bei einer anfänglichen Dosis unzureichend ist, können höhere Dosen (oder effektiv höhere Dosen, die durch einen anderen, stärker lokalisierten Verabreichungsweg erzielt werden) eingesetzt werden.

Im Allgemeinen werden für eine Behandlung oder für eine Erzeugung oder Erhöhung einer Immunreaktion Dosen des Tumor-assoziierten Antigens von 1 ng bis 1 mg, vorzugsweise von 10 ng bis 100 µg formuliert und verabreicht. Falls die Verabreichung von Nukleinsäuren (DNA sowie RNA), die für Tumor-assoziierte Antigene kodieren, erwünscht ist, werden Dosen von 1 ng bis 0,1 mg formuliert und verabreicht.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen werden im Allgemeinen in pharmazeutisch verträglichen Mengen und in pharmazeutisch verträglichen Zusammensetzungen verabreicht. Der Begriff "pharmazeutisch verträglich" betrifft ein nicht-toxisches Material, das nicht mit der Wirkung des aktiven Bestandteils der pharmazeutischen Zusammensetzung wechselwirkt. Solche Zubereitungen können gewöhnlich Salze, Pufferstoffe, Konservierungsstoffe, Träger und gegebenenfalls andere therapeutische Wirkstoffe enthalten. Bei einer Verwendung in der Medizin sollten die Salze pharmazeutisch verträglich sein. Nicht-pharmazeutisch verträgliche Salze können jedoch für die Herstellung

pharmazeutisch verträglicher Salze davon verwendet werden und sind erfindungsgemäß umfasst. Solche pharmakologisch und pharmazeutisch verträglichen Salze umfassen in nicht begrenzender Weise diejenigen, die aus den nachstehenden Säuren hergestellt werden: Chlorwasserstoff-, Bromwasserstoff-, Schwefel-, Salpeter-, Phosphor-, Malein-, Essig-,  
5 Salicyl-, Citronen-, Ameisen-, Malon-, Bernsteinsäure und ähnliches. Pharmazeutisch verträgliche Salze können auch als Alkalimetall- oder Erdalkalimetallsalze wie Natrium-, Kalium- oder Calciumsalze hergestellt werden.

Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung kann einen pharmazeutisch  
10 verträglichen Träger umfassen. Der Begriff "pharmazeutisch verträglicher Träger" betrifft erfindungsgemäß einen oder mehrere kompatible feste oder flüssige Füllstoffe, Verdünnungsmittel oder Kapselsubstanzen, die für eine Verabreichung an einen Menschen geeignet sind. Der Begriff "Träger" betrifft einen organischen oder anorganischen Bestandteil,  
15 natürlicher oder synthetischer Natur, in dem der aktive Bestandteil kombiniert wird, um eine Anwendung zu erleichtern. Die Bestandteile der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung sind gewöhnlich derart, dass keine Interaktion auftritt, die die gewünschte pharmazeutische Wirksamkeit wesentlich beeinträchtigt.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen können geeignete  
20 Pufferstoffe wie Essigsäure in einem Salz, Citronensäure in einem Salz, Borsäure in einem Salz und Phosphorsäure in einem Salz enthalten.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen können auch gegebenenfalls geeignete Konservierungsstoffe wie Benzalkoniumchlorid, Chlorbutanol, Parabene und Thimerosal  
25 enthalten.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen werden gewöhnlich in einer einheitlichen Dosisform dargeboten und können in an sich bekannter Weise hergestellt werden. Erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzungen können beispielsweise in Form von  
30 Kapseln, Tabletten, Lutschpastillen, Suspensionen, Sirupen, Elixieren oder als Emulsion vorliegen.

Zusammensetzungen, die für eine parenterale Verabreichung geeignet sind, umfassen gewöhnlich eine sterile wässrige oder nicht-wässrige Zubereitung des Wirkstoffs, die

vorzugsweise mit dem Blut des Empfängers isotonisch ist. Verträgliche Träger und Lösungsmittel sind beispielsweise Ringer-Lösung und isotonische Natriumchloridlösung. Zusätzlich werden gewöhnlich sterile, fixierte Öle als Lösungs- oder Suspensionsmedium eingesetzt.

5

Die vorliegende Erfindung wird durch die nachstehenden Abbildungen und Beispiele ausführlich beschrieben, die ausschließlich der Erläuterung dienen und nicht begrenzend zu verstehen sind. Dem Fachmann sind aufgrund der Beschreibung und der Beispiele weitere Ausführungsformen zugänglich, die ebenfalls erfindungsgemäß umfasst sind.

10

### **Abbildungen:**

#### **Abb. 1. GPR35 mRNA-Expression in Kolon-Karzinom-Biopsien**

RT-PCR-Untersuchungen mit DNA-freier RNA zeigen GPR35-Expression in der Mehrzahl der Kolon-Karzinom-Biopsien. Hingegen ist eine Expression in Normalgeweben nicht nachweisbar. (1-Brust, 2-Lunge, 3-Lymphknoten, 4-Thymus, 5-Kolon, 6-15 Kolonkarzinom, 16-neg. Kontrolle).

#### **Abb. 2. Quantitative PCR-Analyse der GUCY2C mRNA-Expression in Normal- und Tumor-Geweben**

20

Real-Time PCR-Untersuchung mit GUCY2C-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 22-23) zeigt eine selektive mRNA-Expression im normalen Ileum, Kolon, sowie in allen Kolon-Karzinom-Biopsien. Deutliche GUCY2C-Transkriptmengen wurden auch in einer Kolonkarzinom-Metastase in der Leber detektiert.

25

#### **Abb. 3. Identifikation von tumorspezifischen GUCY2C-Spleißvarianten**

PCR-Produkte von normalen Kolongeweben und Kolonkarzinomen wurden kloniert und Klone aus beiden Gruppen durch Restriktionsanalyse (EcoR I) überprüft und sequenziert.

#### **Abb. 4. Selektive SCGB3A-Expression in normaler Lunge und Lungenkarzinom**

30

RT-PCR-Analyse mit Gen-spezifischen SCGB3A2-Primern (SEQ ID NO:37, 38) zeigt eine cDNA-Amplifikation ausschließlich in normaler Lunge (Spur 8, 14-15) und in Lungenkarzinom-Biopsien (Spur 16-24). (1-Leber-N, 2-PBMC-N, 3-Lymphknoten-N, 4-



Magen-N, 5-Testis-N, 6-Mamma-N, 7-Niere-N, 8-Lunge-N, 9-Thymus-N, 10-Ovar-N, 11-Nebenniere-N, 12-Milz-N, 14-15-Lunge-N, 16-24-Lungen-Karzinom, 25-Negativ-Kontrolle).

**Abb. 5. Claudin-18A2.1-Expression im Magen, Ösophagus, Magen- und Pankreaskarzinom**

RT-PCR-Analyse mit Claudin-18A2.1-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 39, 40) zeigte erfindungsgemäß in 8/10 Magenkarzinom-Biopsien, sowie in 3/6 Pankreaskarzinom-Biopsien eine ausgeprägte Claudin-18A2.1-Expression. In Magen und Ösophagus-Normalgewebe wurde ebenfalls eine deutliche Expression nachgewiesen. Im Gegensatz dazu wurde im Ovar und im Ovarkarzinom keine Expression detektiert.

**Abb. 6. SLC13A1-Expression in der Niere und Nierenzellkarzinom**

RT-PCR-Analyse mit SLC13A1-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 49, 50) zeigte in 7/8 Nierenzellkarzinom-Proben eine Expression. Ansonsten wurden Transkripte innerhalb der Normalgewebe ausschließlich in der Niere detektiert. (1-2-Niere, 3-10-Nierenzellkarzinom, 11-Brust, 12-Lunge, 13-Leber, 14-Kolon, 15-Lymphknoten, 16-Milz, 17-Ösophagus, 18-Thymus, 19-Schilddrüse, 20-PBMCs, 21-Ovar, 22-Hoden).

**Abb. 7. CLCA1-Expression im Kolon, Kolon- und Magen-Karzinom**

RT-PCR-Untersuchungen mit CLCA1-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 67, 68) bestätigten eine selektive Expression im Kolon, und zeigten eine hohe Expression in (3/7) untersuchten Kolon- und (1/3) untersuchten Magenkarzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe (NG) zeigten keine oder nur eine sehr schwache Expression.

**Abb. 8. FLJ21477-Expression im Kolon und Kolon-Karzinom**

RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ21477-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 69, 70) zeigten eine selektive Expression im Kolon, und darüber hinaus unterschiedlich stark ausgeprägte Expression in (7/12) untersuchten Kolon-Karzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe (NG) zeigten keine Expression.

**Abb. 9. FLJ20694-Expression im Kolon und Kolon-Karzinom**

RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ20694-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 71, 72) zeigten eine selektive Expression im Kolon, und darüber hinaus unterschiedlich stark ausgeprägte

Expression in (5/9) untersuchten Kolon-Karzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe (NG) zeigten keine Expression.

**Abb. 10. von Ebner-Expression in Magen, Lunge und Lungen-Karzinom**

5 RT-PCR-Untersuchungen mit von Ebner-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 73, 74) zeigten eine selektive Expression im Magen, in der Lunge und in (5/10) untersuchten Lungen-Karzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe (NG) zeigten keine Expression.

**Abb. 11. Plunc-Expression in Thymus, Lunge und Lungen-Karzinom**

10 RT-PCR-Untersuchungen mit Plunc-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 75, 76) zeigten eine selektive Expression im Thymus, in der Lunge und in (6/10) untersuchten Lungen-Karzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression.

**Abb. 12. SLC26A9-Expression in Lunge, Lungenkarzinom und Schilddrüse**

15 RT-PCR-Untersuchungen mit SLC26A9-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 77, 78) zeigten eine selektive Expression in der Lunge und in allen (13/13) untersuchten Lungen-Karzinom-Proben. Die übrigen Normalgewebe (NG) zeigten mit Ausnahme der Schilddrüse keine Expression.

**Abb. 13. THC1005163-Expression in Magen, Ovar, Lunge und Lungenkarzinom**

20 RT-PCR-Untersuchungen mit einem THC1005163-spezifischen Primer (SEQ ID NO: 79) und einem unspezifischen Oligo dT-Tag-Primer zeigten eine Expression in Magen, Ovar, Lunge und in (5/9) Lungenkarzinom-Biopsien. Die übrigen Normalgewebe (NG) zeigten keine Expression.

**Abb. 14. LOC134288-Expression in Niere und Nierenzellkarzinom**

25 RT-PCR-Untersuchungen mit LOC134288-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 80, 81) zeigten eine selektive Expression in der Niere und in (5/8) untersuchten Nierenzellkarzinom-Biopsien.

**Abb. 15. THC943866-Expression in Niere und Nierenzellkarzinom**

30 RT-PCR-Untersuchungen mit THC943866-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 82, 83) zeigten eine selektive Expression in der Niere und in (4/8) untersuchten Nierenzellkarzinom-Biopsien.

**Abb. 16. FLJ21458-Expression in Kolon und Kolonkarzinom**

RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ21458-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 86, 87) zeigten eine selektive Expression im Kolon und in (7/10) untersuchten Kolonkarzinom-Biopsien. (1-2-Kolon, 3-Leber, 4-PBMCs, 5-Milz, 6-Prostata, 7-Niere, 8-Ovar, 9-Haut, 10-Ileum, 11-Lunge, 12-Testis, 13-22 Kolonkarzinom, 23- neg. Kontrolle).

**Abb. 17. Zelluläre Lokalisation von GPR35**

Immunfluoreszenz zum Nachweis der zellulären Lokalisation von GPR35 nach Transfektion eines Plasmides, dass ein GPR35-GFP Fusionsprotein exprimiert. Die Pfeile kennzeichnen die membranständige Fluoreszenz des fluoreszierenden GFP.

**Abb. 18. Quantitative Expression von GPR35**

- A. Quantitative RT-PCR mit GPR35-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 88, 89) zeigen die selektive Expression im Darm, in Dickdarmtumorproben und in Metastasen aus Darmtumoren. Folgende Normalgewebe wurden analysiert: Leber, Lunge, Lymphknoten, Magen, Milz, Nebenniere, Niere, Ösophagus, Ovar, Testis, Thymus, Haut, Brust, Pankreas, Lymphozyten, aktivierte Lymphozyten, Prostata, Schilddrüse, Eileiter, Endometrium, Kleinhirn, Hirn.
- B. Prävalenz von GPR35 in Dickdarmtumoren und deren Metastasen. In über 90% der Fälle ist GPR35 sowohl in Tumoren als auch in Metastasen exprimiert.

**Abb. 19. Quantitative Expression von GUCY2C**

Quantitative RT-PCR mit GUCY2C-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 98, 99) zeigen die hohe und selektive Expression im normalen Dickdarm- und Magengewebe (A) sowie die GUCY2C-spezifische Expression in Dickdarm- und Magentumorproben (B). GUCY2C ist nachweisbar in 11/12 Kolonkarzinomen und in 7/10 Magenkarzinomen.

**Abb. 20. Quantitative Expression von SCGB3A2**

Quantitative RT-PCR mit SCGB3A2-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 103, 104) zeigen die selektive Expression in Lungen- und Lungentumorproben. 19/20 Lungentumorproben sind SCGB3A2-positiv, in mehr als 50% der Proben ist SCGB3A2 um mindestens einen Faktor 10 überexprimiert. Folgende Normalgewebe wurden analysiert: Leber, Lunge, Lymphknoten, Magen, Milz, Nebenniere, Niere, Ösophagus, Ovar, Testis, Thymus, Haut, Brust, Pankreas,

Lymphozyten, aktivierte Lymphozyten, Prostata, Schilddrüse, Eileiter, Endometrium, Kleinhirn, Hirn.

**Abb. 21. Immunfluoreszenz mit SCGB3A2-spezifischen Antikörpern**

5 COS7-Zellen wurden mit einem Plasmid transfiziert, das für ein SCGB3A2-GFP-Fusionsprotein kodiert. A. Nachweis des transfizierten Fusionsproteins mit einem SCGB3A2-spezifischen Kaninchen-Antiserum (Immunisierung mit SEQ ID NO: 105). B. Nachweis des transfizierten Fusionsproteins durch GFP-Fluoreszenz. C. Überlagerung der beiden  
10 Fluoreszenzen aus A und B. Die gelbe Färbung entsteht an den Stellen, an denen sich beide Fluoreszenzen überlagern und weist damit die Spezifität des SCGB3A2-Antiserums nach.

**Abb. 22. Schematische Darstellung von Claudin-18-Spleissvarianten**

Die beiden Claudin-18 Spleißvarianten A1 und A2 unterscheiden sich im N-Terminus und zeigen unterschiedliche potentielle Glykosylierungsstellen.

**Abb. 23. Quantitative Expression von Claudin-18, Variante A1**

Claudin-A1 ist in einer Vielzahl von Tumorgeweben stark aktiviert. Eine besonders starke Expression findet sich in Magentumoren, Lungentumoren, Pankreaskarzinomen und Speiseröhrenkarzinomen.

**Abb. 24. Quantitative Expression von Claudin-18, Variante A2**

Wie die Variante A1 ist die Variante A2 in vielen Tumoren aktiviert.

**Abb. 25. Verwendung Claudin-18A2-spezifischer Antikörper (extrazelluläre Domäne)**

25 (oben) Färbung von Claudin-18A2-positiven Magenkarzinomzellen (SNU-16) mit einem Antikörper, der durch Immunisierung mit einem Peptid (SEQ ID NO:17) hergestellt wurde. Membranfärbung tritt besonders stark in den Zell/Zell-Interaktionsbereichen auf. A-Präimmun., MeOH; B-Immunserum MeOH, 5 µg/ml (unten) Nachweis der Spezifität des Antikörpers durch Kolokalisationsanalyse in Claudin-18A2-GFP-transfizierten 293T-Zellen.  
30 A-Claudin-18A2 GFP; B-anti-Claudin-A2; C-Überlagerung.

**Abb. 26. Verwendung Claudin-18A2-spezifischer Antikörper (extrazelluläre Domäne)**

Membranfärbung von Claudin-18A2-positiven Magenkarzinomzellen (SNU-16) mit einem Antikörper, der durch Immunisierung mit einem Peptid (SEQ ID NO.:113, N-terminal-

gelegene extrazelluläre Domäne) hergestellt wurde. Zur Gegenfärbung wurde ein monoklonaler Antikörper verwendet, der gegen E-Cadherin gerichtet ist. A-Antikörper; B-Gegenfärbung; C-Überlagerung.

5 **Abb. 27. Verwendung von Antikörpern gegen die C-terminal extrazelluläre Domäne von Claudin-18**

(links, oben und unten) Membranfärbung von Claudin-18A2-positiven Magenkarzinomzellen (SNU-16) mit einem Antikörper, der durch Immunisierung mit einem Peptid (SEQ ID NO.:116, C-terminal-gelegene extrazelluläre Domäne) hergestellt wurde. Zur Gegenfärbung wurde ein monoklonaler Antikörper verwendet, der gegen E-Cadherin gerichtet ist (rechts oben, unten).

**Abb. 28. Verwendung Claudin-18A1-spezifischer Antikörper**

(oben) schwache bis fehlende Färbung von Magenkarzinomzellen (SNU-16; Claudin18A2 positiv) mit einem Antikörper, der durch Immunisierung mit einem Claudin-18A1-spezifischen Peptid (SEQ ID NO:115) hergestellt wurde. A-anti-E-Cadherin; B-anti-Claudin-18A1; C-Überlagerung.

(unten) Nachweis der Spezifität des Antikörpers durch Kolokalisationsanalyse in Claudin-18A1-GFP-transfizierten 293T-Zellen. A- GFP-Claudin-18A1; B-anti-Claudin-18A1; C-Überlagerung.

**Abb. 29. Nachweis von Claudin-18A2 im Western-Blot.**

Western-Blot mit Lysaten aus verschiedenen gesunden Geweben mit einem Claudin-18A2 spezifischen Antikörper, gerichtet gegen das Epitop mit SEQ ID NO:17. 1-Magen; 2-Testis; 3-Haut; 4-Brust; 5-Leber; 6-Dickdarm; 7-Lunge; 8-Niere; 9-Lymphknoten.

**Abb. 30. Claudin-18A2 Western-Blot mit Proben aus Magen und Magentumoren**

Lysate aus Magen und Magentumoren wurden geblottet und mit einem Claudin-18A2-spezifischen Antikörper gegen das Epitop mit SEQ ID NO:17 getestet. Magentumoren weisen eine geringer glykosylierte Form von Claudin-18A2 auf. PNGase F-Behandlung von Magenlysaten führt zur Bildung der niedrigglykosylierten Form.

links: 1-Magen No #A; 2-Magen Tu #A; 3-Magen No #B; 4-Magen Tu #B

rechts: 1-Magen No #A; 2-Magen No #B; 3-Magen No #B + PNGase F; 4-Magen Tu #C; 5-Magen Tu #D; 6-Magen Tu #D+ PNGase F

**Abb. 31. Expression von Claudin-18 in Lungentumoren**

Entsprechend zu Abb. 30 erfolgte ein Nachweis von niedrigglykosylierten Claudin-18A2-Varianten in Lungentumoren. 1-Magen No; 2-Magen Tu; 3-9-Lunge Tu.

5 **Abb. 32. Immunhistochemische Analyse von Claudin-18 mit Claudin-18A2-spezifischen Antikörpern in Magentumorgewebe**

**Abb. 33. Indirekte Immunfluoreszenz von Magen-spezifischen Snu16-Zellen mit einem Claudin-18-spezifischen polyklonalen Antiserum**

10 A. Färbung mit einem Präimmunserum, generiert vor der Immunisierung; B Färbung mit dem Claudin-18-spezifischen Serum

**Abb. 34. Quantitative Expression von SLC13A1**

15 Quantitative RT-PCR mit SLC13A1-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 121, 122) zeigen die hohe und selektive Expression in normalem Nierengewebe (A) sowie die SLC13A1-spezifische Expression in Nierenzellkarzinomen (B). SLC13A1-Transkription ist in 5/8 Nierenzellkarzinomen nachweisbar.

**Abb. 35. Zelluläre Lokalisation von SLC13A1**

20 Immunfluoreszenz zum Nachweis der zellulären Lokalisation von SLC13A1 nach Transfektion eines Plasmides, das ein SLC13A1-GFP-Fusionsprotein bereitstellt. Deutlich zu sehen ist die membranständige Fluoreszenz (als Ring um die transfizierte Zelle) des SLC13A1-Fusionsproteins.

25 **Abb. 36. Quantitative Expression von CLCA1**

Quantitative RT-PCR mit CLCA1-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 125, 126) zeigen die hohe und selektive Expression im normalen Dickdarm- und Magengewebe (A) sowie die CLCA1-spezifische Expression in Dickdarm- und Magentumorproben (B). CLCA1 ist nachweisbar in 6/12 Kolonkarzinomen und in 7/10 Magenkarzinomen.

30

**Abb. 37. Quantitative Expression von FLJ21477**

Quantitative RT-PCR mit FLJ21477-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 127, 128) zeigen die hohe und selektive Expression im normalen Dickdarm- und Magengewebe sowie eine schwache Expression in Thymus, Ösophagus und Gehirn (A) sowie die FLJ21477-spezifische

Expression in Dickdarmtumorproben (B). FLJ21477 ist nachweisbar in 11/12 Kolonkarzinomen.

#### **Abb. 38. Quantitative Expression von FLJ20694**

- 5 Quantitative RT-PCR mit FLJ20694-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 129, 130) zeigen die hohe und selektive Expression im normalen Dickdarm- und Magengewebe (A) sowie die FLJ20694-spezifische Überexpression in Dickdarm- und Magentumorproben (B). FLJ20694 ist nachweisbar in 11/12 Kolonkarzinomen und in 7/10 Magenkarzinomen.

#### **Abb. 39. Quantitative Expression von FLJ21458**

- Quantitative RT-PCR mit FLJ21458-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 133, 134) zeigen die selektive Expression in Testis, Magen- und Darmgewebe. Außerdem konnten FLJ21458-spezifische Transkripte in 20/20 Dickdarmtumoren und in 7/11 Dickdarmmetastasen nachgewiesen werden. Folgende Normalgewebe wurden analysiert: Leber, Lunge, 15 Lymphknoten, Milz, Nebenniere, Niere, Ösophagus, Ovar, Testis, Thymus, Haut, Brust, Pankreas, Lymphozyten, aktivierte Lymphozyten, Prostata, Schilddrüse, Eileiter, Endometrium, Kleinhirn, Hirn.

#### **Abb. 40. Immunfluoreszenz mit FLJ21458-spezifischen Antikörpern**

- 20 (oben) 293-Zellen wurden mit einem Plasmid transfiziert, das für ein FLJ21458-GFP-Fusionsprotein kodiert. A: Nachweis des transfizierten Fusionsproteins mit einem FLJ21458-spezifischen Kannichen-Antiserum (Immunisierung mit SEQ ID NO: 136). B: Nachweis des transfizierten Fusionsproteins durch GFP-Fluoreszenz. C: Überlagerung der beiden Fluoreszenzen aus A und B. Die gelbe Färbung entsteht an den Stellen, an denen sich beide 25 Fluoreszenzen überlagern und weist damit die Spezifität des FLJ21458-Antiserums nach.
- (unten) Analyse von Sn16-Zellen, die endogen FLJ21458 synthetisieren. A: Proteinnachweis mit einem FLJ21458-spezifischen Kaninchen-Antiserum (Immunisierung mit SEQ ID NO: 136). B: Nachweis des Membranproteins E-Cadherin. C: Überlagerung der beiden 30 Fluoreszenzen aus A und B. Die gelbe Färbung entsteht an den Stellen, an denen sich beide Fluoreszenzen überlagern, und weist die Membranlokalisation von FLJ21458 nach.

#### **Abb. 41. Sequenzen**

Gezeigt sind die Sequenzen, auf die hierin verwiesen wird.

**Beispiele:****Material und Methoden**

Die Begriffe "*in silico*", "elektronisch" und "virtuell klonieren" beziehen sich rein auf die  
5 Nutzung von auf Datenbanken beruhenden Verfahren, mit denen auch Labor-experimentelle  
Vorgänge simuliert werden können.

Alle anderen Begriffe und Termini werden, falls nicht explizit anders definiert, so verwendet,  
wie sie der Fachmann versteht. Die genannten Techniken und Methoden erfolgen in an sich  
bekannter Weise und sind z.B. in Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*,  
10 2. Auflage (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y  
beschrieben. Alle Verfahren, die die Verwendung von Kits und Reagenzien einschließen, sind  
entsprechend den Angaben der Hersteller durchgeführt.

**Datamining-basierte Strategie zur Ermittlung von neuen Tumor-assoziierten Genen**

15 Zwei *in silico* Strategien nämlich GenBank-Schlagwort-Suche und der cDNAxProfiler  
wurden kombiniert. Es wurde unter Nutzung des ENTREZ Search and Retrieval Systems des  
NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>) eine Suche nach Kandidaten-Genen in der  
GenBank durchgeführt, die annotiert sind als spezifisch exprimiert in bestimmten Geweben  
(Wheeler et al., *Nucleic Acids Research* 28:10-14, 2000).

20 Durch Suchabfragen mit Schlagworten wie beispielsweise "colon-specific gene", "stomach-  
specific gene", oder "kidney-specific gene" wurden Kandidatengene (GOI, genes of interest)  
aus den Datenbanken herausextrahiert. Die Suche wurde auf einen Teil der  
Gesamtinformation dieser Datenbanken eingeschränkt, indem als Limits "homo sapiens" für  
den Organismus und "mRNA" für die Molekülart eingesetzt wurden.

25 Die Liste der gefundenen GOI wurde kuratiert, indem unterschiedliche Bezeichnungen für  
dieselbe Sequenz ermittelt und solche Redundanzen behoben wurden.

Alle Kandidatengene, die sich durch die Schlagwort-Suche ergaben, wurden wiederum durch  
das Verfahren des "electronic Northern" (eNorthern) bezüglich ihrer Gewebeverteilung  
untersucht. Der eNorthern basiert darauf, dass die Sequenz eines GOI gegenüber einer EST-  
30 (expressed sequence tag) Datenbank (Adams et al., *Science* 252:1651, 1991) abgeglichen wird  
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Zu jedem EST, das sich als homolog zum  
einggegebenen GOI ergibt, lässt sich die Gewebeherkunft ermitteln und durch die Summe aller  
ESTs auf diese Weise eine vorläufige Einschätzung der Gewebeverteilung des GOI erreichen.  
Nur diejenigen GOI wurden weiteren Untersuchungen zugeführt, die keine Homologien zu



EST aus nicht Organ-spezifischen Normalgeweben hatten. Für dies Beurteilung wurde auch berücksichtigt, dass es falsch-annotierte cDNA-Banken in der öffentlichen Domäne gibt (Scheurle et al., *Cancer Res.* 60: 4037-4043, 2000) ([www.fau.edu/cmabb/publications/cancergenesis6.htm](http://www.fau.edu/cmabb/publications/cancergenesis6.htm)). Als zweites Datamining-Verfahren wurde der cDNA xProfiler des Cancer Genome Anatomy Projekts des NCBI (<http://cgap.nci.nih.gov/Tissues/xProfiler>) genutzt (Hillier et al., *Genome Research* 6:807-828, 1996; Pennisi, *Science* 276:1023-1024, 1997). Dieser erlaubt, Pools von in Datenbanken abgelegten Transkriptomen durch logische Operatoren in Beziehung zueinander zu setzen. Wir haben einen Pool A definiert, dem beispielsweise alle aus Colon hergestellten Expressionsbibliotheken, unter Ausschluss von gemischten Bibliotheken zugeordnet wurden. Dem Pool B wurden alle cDNA-Bibliotheken zugeordnet, die von Normalgeweben mit Ausnahme von Colon hergestellt waren. Generell wurden alle cDNA-Banken unabhängig vom zugrundeliegenden Herstellungsverfahren genutzt, allerdings lediglich solche mit einer Mächtigkeit > 1000 zugelassen. Mittels des BUT NOT Operators wurde Pool B digital von Pool A subtrahiert. Auch das Set der auf diese Weise gefundenen GOI wurde eNorthern-Studien unterzogen, sowie durch eine Literaturrecherche abgesichert. Dieses kombinierte Datamining schließt alle etwa 13 000 Volllänge-Gene in der öffentlichen Domäne ein und prädiziert aus diesen Gene mit potentieller Organ-spezifischer Expression.

Alle anderen Gene wurden zunächst durch spezifische RT-PCR in Normalgeweben evaluiert. Alle GOI, die sich als in nicht Organ-spezifischen Normalgeweben exprimiert erwiesen, hatten als Falsch-Positive zu gelten und wurden aus weiteren Untersuchungen ausgeschlossen. Die verbliebenen wurden in einem großen Panel an verschiedensten Tumorgeweben untersucht. Die unten dargestellten Antigene erwiesen sich dabei als in Tumorzellen aktiviert.

#### **RNA-Extraktion, Herstellung von poly-d(T) geprimter cDNA und konventionelle RT-PCR Analyse**

Gesamt-RNA aus nativem Gewebematerial wurde unter Verwendung von Guanidium-isothiocyanat als chaotrophem Agens extrahiert (Chomczynski & Sacchi, *Anal. Biochem.* 162:156-9, 1987). Nach Extraktion mit saurem Phenol und Fällung mit Isopropanol wurde die RNA in DEPC-behandeltem Wasser gelöst.

Aus 2-4 µg Gesamt-RNA wurde in einem 20µl Reaktionsansatz mittels Superscript II (Invitrogen) entsprechend den Angaben des Herstellers eine Erststrang-cDNA-Synthese

durchgeführt. Als Primer wurde ein dT(18) Oligonukleotid verwendet. Integrität und Qualität der cDNA wurden durch Amplifikation von p53 in einer 30 Zyklen-PCR (sense CGTGAGCGCTTCGAGATGTTCCG, antisense CCTAACCAGCTGCCCAACTGTAG, Hybridisierungstemperatur 67°C) überprüft.

- 5 Es wurde ein Archiv aus Erststrang-cDNAs aus einer Reihe von Normalgeweben und Tumorentitäten hergestellt. Für Expressionsstudien wurden 0,5 µl dieser cDNAs in einem 30µl Reaktionsansatz mit GOI-spezifischen Primern (siehe unten) und 1 U HotStarTaq DNA Polymerase (Qiagen) amplifiziert. Der Reaktionsansatz enthielt jeweils 0,3 mM dNTPs, je 0,3 µM jeden Primers und 3 µl 10 x Reaktionspuffer.
- 10 Die Primer wurden so ausgewählt, dass sie in 2 verschiedenen Exons liegen, und die Beseitigung der Interferenz durch kontaminierende genomische DNA als Grund für falsch positive Resultate wurde durch Testen von nicht revers transkribierter DNA als Matrize bestätigt. Nach 15 Minuten bei 95°C zur Aktivierung der HotStarTaq DNA Polymerase wurden 35 Zyklen PCR durchgeführt (1 min 94°C, 1 min jeweilige
- 15 Hybridisierungstemperatur, 2 min 72°C und abschließende Elongation bei 72°C für 6 min). 20µl dieser Reaktion wurden auf einem mit Ethidiumbromid gefärbten Agarosegel aufgetrennt und analysiert.

Folgende Primer wurden für die Expressionsanalyse der entsprechenden Antigene bei der angegebenen Hybridisierungstemperatur verwendet.

20 GPR35 (65°C)

Sense: 5'-AGGTACATGAGCATCAGCCTG-3'

Antisense: 5'-GCAGCAGTTGGCATCTGAGAG-3'

25 GUCY2C (62°C)

Sense: 5'-GCAATAGACATTGCCAAGATG-3'

Antisense: 5'-AACGCTGTTGATTCTCCACAG-3'

SCGB3A2 (66°C)

Sense: 5'-CAGCCTTTGTAGTTACTCTGC-3'

30 Antisense: 5'-TGTCACACCAAGTGTGATAGC-3'

Claudin18A2 (68°C)

Sense1: 5'-GGTTCGTGGTTTCACTGATTGGGATTGC-3'

Antisense1: 5'-CGGCTTTGTAGTTGGTTTCTTCTGGTG-3'

Sense2: 5'-TGTTTTCAACTACCAGGGGC-3'

Antisense2: 5'-TGTTGGCTTTGGCAGAGTCC-3'

Claudin18A1 (64°C)

Sense: 5'-GAGGCAGAGTTCAGGCTTCACCGA-3'

Antisense: 5'-TGTTGGCTTTGGCAGAGTCC-3'

5 SLC13A1 (64°C)

Sense: 5'-CAGATGGTTGTGAGGAGTCTG-3'

Antisense: 5'-CCAGCTTTAACCATGTCAATG-3'

CLCA1 (62°C)

Sense: 5'-ACACGAATGGTAGATACAGTG-3'

10 Antisense: 5'-ATACTTGTGAGCTGTTCCATG-3'

FLJ21477 (68°C)

Sense: 5'-ACTGTTACCTTGCATGGACTG-3'

Antisense: 5'-CAATGAGAACACATGGACATG-3'

FLJ20694 (64°C)

15 Sense: 5'-CCATGAAAGCTCCATGTCTA-3'

Antisense: 5'-AGAGATGGCACATATTCTGTC

Ebner (70°C)

Sense: 5'-ATCGGCTGAAGTCAAGCATCG-3'

Antisense: 5'-TGGTCAGTGAGGACTCAGCTG-3'

20 Plunc (55°C)

Sense: 5'-TTTCTCTGCTTGATGCACTTG-3'

Antisense: 5'-GTGAGCACTGGGAAGCAGCTC-3'

SLC26A9 (67°C)

Sense: 5'-GGCAAATGCTAGAGACGTGA-3'

25 Antisense: 5'-AGGTGTCCTTCAGCTGCCAAG-3'

THC1005163 (60°C)

Sense: 5'-GTTAAGTGCTCTCTGGATTTG-3'

LOC134288 (64°C)

Sense: 5'-ATCCTGATTGCTGTGTGCAAG-3'

30 Antisense: 5'-CTCTTCTAGCTGGTCAACATC-3'

THC943866 (59°C)

Sense: 5'-CCAGCAACAACCTTACGTGGTC-3'

Antisense: 5'-CCTTTATTACCCAATCACTC-3'

FLJ21458 (62°C)

Sense: 5'-ATTCATGGTTCCAGCAGGGAC-3'

Antisense: 5'-GGGAGACAAAGTCACGTACTC-3'

### **Herstellung von Random-Hexamer-geprimter cDNA und quantitative Real-Time-PCR**

- 5 Die Expression mehrere Gene wurde mittels Real-Time-PCR quantifiziert. Dabei wurden die PCR-Produkte mit SYBR-Green als interkalierendem Reporterfarbstoff detektiert. Die Reporterfluoreszenz von SYBR-Green ist in Lösung supprimiert und erst nach Bindung an doppelsträngige DNA-Fragmente ist der Farbstoff aktiv. Das Ansteigen der SYBR-Green-Fluoreszenz als Folge der spezifischen Amplifikation mittels GOI-spezifischen Primern nach
- 10 jedem PCR-Zyklus wird zur Quantifizierung genutzt. Die Expressionsquantifizierung des Zielgens erfolgt absolut oder relativ zur Expression eines Kontrollgens mit konstanter Expression in den zu untersuchenden Geweben. Die Expression wurde nach Normalisierung der Proben gegen 18s RNA als sog. Housekeeping-Gen mittels der  $\Delta\Delta-C_t$  Methode (PE Biosystems, USA) ermittelt. Die Reaktionen wurden in Duplex-Ansätzen durchgeführt und in
- 15 Triplikaten bestimmt. Verwendet wurde der QuantiTect SYBR-Green PCR Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers. Die Synthese der cDNA erfolgte mit dem High Capacity cDNA Archive Kit (PE Biosystems, USA) unter Verwendung von Hexamer-Primern nach Angaben des Herstellers. Jeweils 5  $\mu$ l der verdünnten cDNA wurden in 25  $\mu$ l Gesamtvolumen für die PCR eingesetzt: sense-Primer 300nM, antisense-Primer 300nM;
- 20 initiale Denaturierung 95°C 15 min; 95°C 30 sec; Annealing 30 sec; 72°C 30 sec; 40 Zyklen. Die Sequenzen der verwendeten Primer sind in den jeweiligen Beispielen aufgeführt.

### **Klonierung und Sequenzanalyse**

- Klonierung von Vollängen bzw. Genfragmenten erfolgte nach gängigen Methoden. Zur
- 25 Ermittlung der Sequenz wurden entsprechende Antigene mittels der Proofreading-Polymerase pfu (Stratagene) amplifiziert. Nach Beendigung der PCR wurde Adenosin mittels HotStarTaq DNA Polymerase an die Enden des Amplikons ligiert, um die Fragmente entsprechend den Angaben des Herstellers in den TOPO-TA-Vektor zu klonieren. Die Sequenzierung wurde durch einen kommerziellen Service durchgeführt. Die Sequenzen wurden mittels gängiger
- 30 Prädiktionsprogramme und Algorithmen analysiert.

### **Western-Blot**

Zellen aus Zellkultur (endogene Expression des Zielgens oder Synthese des Zielproteins nach Transfektion eines Expressionsvektors, der das Zielprotein kodiert) oder Gewebeproben, die

das Zielprotein enthalten könnten, werden in einer 1%igen SDS Lösung lysiert. Das SDS denaturiert dabei die im Lysat enthaltenen Proteine. Die Lysate eines experimentellen Ansatzes werden abhängig von der erwarteten Proteingröße auf 8-15 %igen denaturierenden Polyacrylamidgelen (enthalten 1% SDS) der Größe nach elektrophoretisch aufgetrennt (SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese, SDS-PAGE). Anschließend werden die Proteine durch das

5 semi-dry Elektroblob Verfahren (Biorad) auf Nitrozellulose-Membran (Schleicher & Schüll) transferiert, auf der das gewünschte Protein nachgewiesen werden kann. Dazu wird die Membran zunächst blockiert (z.B. mit Milchpulver) und anschließend mit dem spezifischen Antikörper in einer Verdünnung von 1:20-1:200 (je nach Spezifität des Antikörpers) für 60

10 Minuten inkubiert. Nach einem Waschschrift wird die Membran mit einem zweiten, mit einem Marker (z.B. Enzyme wie Peroxidase oder alkalische Phosphatase) gekoppelten Antikörper inkubiert, der den ersten Antikörper erkennt. Nach einem weiteren Waschschrift wird anschließend das Zielprotein in einer Farb- oder Chemilumineszenz-Reaktion auf der Membran mittels einer Enzymreaktion sichtbar gemacht (z.B. ECL, Amersham Bioscience).

15 Das Ergebnis wird durch Aufnahme mit einer geeigneten Kamera dokumentiert.

Die Analyse von Proteinmodifikationen erfolgt in der Regel im Western-Blot. Glykosylierungen, die in der Regel eine Größe von mehreren kDa haben, führen zu einer größeren Gesamtmasse des Zielproteins, die sich in der SDS-PAGE auftrennen lässt. Zum

20 Nachweis von spezifischen O- und N-glykosidischen Bindungen werden Proteinlysate aus Geweben oder Zellen vor der Denaturierung durch SDS mit O- oder N-Glykosidasen inkubiert (nach Angaben des jeweiligen Herstellers, z.B. PNGase, Endoglykosidase F, Endoglykosidase H, Roche Diagnostics). Anschließend erfolgt ein Western-Blot wie vorstehend beschrieben. Bei Verringerung der Größe eines Zielproteins kann so nach

25 Inkubation mit einer Glykosidase eine spezifische Glykosylierung nachgewiesen und auf diesem Weg auch die Tumorspezifität einer Modifikation analysiert werden. Mit Algorithmen und Prädiktionsprogrammen kann die genaue Position der glykosylierten Aminosäure prädiiziert werden.

### 30 Immunfluoreszenz

Es werden Zellen etablierter Zelllinien benutzt, die entweder das Zielprotein endogen synthetisieren (Nachweis der RNA in der RT-PCR oder des Proteins im Western-Blot) oder aber vor der IF mit Plasmid-DNA transfiziert worden sind. Zur Transfektion von Zelllinien mit DNA sind die verschiedensten Methoden (z.B. Elektroporation, Liposomen-basierte

Transfektion, Calciumphosphatpräzipitation) gut etabliert (z.B. Lemoine et al. Methods Mol. Biol. 1997; 75: 441-7). Das transfizierte Plasmid kann bei der Immunfluoreszenz das unmodifizierte Protein kodieren oder aber auch unterschiedliche Aminosäuremarker an das Zielprotein koppeln. Die wichtigsten Marker sind z.B. das fluoreszierende „green fluorescent protein“ (GFP) in seinen verschiedenen differentiell fluoreszierenden Formen und kurze Peptidsequenzen von 6-12 Aminosäuren, für die hoch affine und spezifische Antikörper zur Verfügung stehen. Zellen, die das Zielprotein synthetisieren, werden mit Paraformaldehyd, Saponin oder Methanol fixiert. Anschließend können die Zellen bei Bedarf durch Inkubation mit Detergenzien (z.B. 0,2% Triton X-100) permeabilisiert werden. Nach der Fixierung/Permeabilisierung werden die Zellen mit einem primären Antikörper inkubiert, der gegen das Zielprotein oder gegen einen der gekoppelten Marker gerichtet ist. Nach einem Waschschrift wird der Ansatz mit einem zweiten, mit einem fluoreszierenden Marker (z.B. Fluorescein, Texas Red, Dako) gekoppelten Antikörper inkubiert, der an den ersten Antikörper bindet. Anschließend werden die so markierten Zellen mit Glycerin überschichtet und mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops nach den Angaben des Herstellers analysiert. Spezifische Fluoreszenzemissionen werden dabei, abhängig von den eingesetzten Substanzen, durch spezifische Anregung erreicht. Die Analyse erlaubt in der Regel die sichere Lokalisation des Zielproteins, wobei zur Bestätigung der Antikörperqualität und des Zielproteins in Doppelfärbungen zusätzlich zum Zielprotein auch die gekoppelten Aminosäuremarker oder andere Markerproteine angefärbt werden, deren Lokalisation bereits in der Literatur beschrieben ist. Ein Sonderfall stellt das GFP und seine Derivate dar, dass direkt angeregt werden kann und selbst fluoresziert, so dass zum Nachweis keine Antikörper benötigt werden.

### **Immunhistochemie**

Die IHC dient im einzelnen dazu, um (1) die Menge an Zielprotein in Tumor- und Normalgeweben abschätzen zu können, (2) zu analysieren, wie viele Zellen in Tumor- und gesundem Gewebe das Zielgen synthetisieren, und/oder (3) den Zelltyp in einem Gewebe (Tumor, gesunde Zellen) zu definieren, in dem das Zielprotein nachweisbar ist. Je nach dem individuellen Antikörper müssen unterschiedliche Protokolle verwendet werden (z.B. „Diagnostic Immunohistochemistry by David J., MD Dabbs ISBN: 0443065667“ oder in „Microscopy, Immunohistochemistry, and Antigen Retrieval Methods: For Light and Electron Microscopy ISBN: 0306467704“).

Die Immunhistochemie (IHC) an spezifischen Gewebeproben dient dem Proteinnachweis im entsprechenden Gewebe. Ziel dieses Verfahrens ist es, die Lokalisation eines Proteins in einem funktionell intakten Gewebeverband zu identifizieren. Die IHC dient im einzelnen dazu, um (1) die Menge an Zielprotein in Tumor- und Normalgeweben abschätzen zu können, 5 (2) zu analysieren, wie viele Zellen in Tumor- und gesundem Gewebe das Zielgen synthetisieren, und (3) den Zelltyp in einem Gewebe (Tumor, gesunde Zellen) zu definieren, in dem das Zielprotein nachweisbar ist. Alternativ können die Proteinmengen eines Zielgens durch Gewebssimmunfluoreszenz mittels Digitalkamera und geeigneter Software (z.B. Tillvision, Till-photonics, Deutschland) quantifiziert werden. Die Technologie ist häufig publiziert worden, Details für Färbung und Mikroskopie sind daher z.B. „Diagnostic 10 Immunohistochemistry“ von David J., MD Dabbs ISBN: 0443065667 oder „Microscopy, Immunohistochemistry, and Antigen Retrieval Methods: For Light and Electron Microscopy“ ISBN: 0306467704 zu entnehmen. Zu beachten ist, dass aufgrund der Eigenschaften von Antikörpern unterschiedliche Protokolle verwendet werden müssen (nachstehend ist ein 15 Beispiel beschrieben), um zu einem aussagekräftigen Ergebnis zu kommen.

In der Regel werden histologisch definierte Tumorgewebe und als Referenz vergleichbare gesunde Gewebe in der IHC eingesetzt. Als Positiv- und Negativkontrollen können dabei auch Zelllinien dienen, bei denen die Präsenz des Zielgens durch RT-PCR-Analysen bekannt 20 ist. Eine Hintergrundkontrolle ist immer mitzuführen.

Fixierte Gewebe (z.B. Fixation mit aldehydhaltigen Substanzen, Formaldehyd, Paraformaldehyd oder in alkoholischen Lösungen) oder schockgefrorene Gewebestücke mit einer Dicke von 1-10µm werden auf einem Glasträger aufgebracht. Paraffineingebettete 25 Proben werden z.B. mit Xylol deparaffiniert. Die Proben werden mit TBS-T gewaschen und in Serum blockiert. Anschließend erfolgt die Inkubation mit dem ersten Antikörper (Verdünnung: 1:2 bis 1:2000) für 1-18 Stunden, wobei in der Regel affinitätsgereinigte Antikörper verwendet werden. Nach einem Waschschrift erfolgt eine ca. 30-60 minütige Inkubation mit einem zweiten Antikörper, der mit einer Alkalischen Phosphatase (alternativ: 30 z.B. Peroxidase) gekoppelt und gegen den ersten Antikörper gerichtet ist. Anschließend erfolgt eine Farbreaktion unter Verwendung der von Farbsubstraten, die von dem gebundenen Enzymen umgesetzt werden (vgl. beispielsweise Shi et al., *J. Histochem. Cytochem.* 39: 741-748, 1991; Shin et al., *Lab. Invest.* 64: 693-702, 1991). Zum Nachweis der Antikörper-Spezifität kann die Reaktion durch vorherige Zugabe des Immunogens kompetitiert werden.

## Immunisierung

(Siehe auch Monoclonal Antibodies: A Practical Approach by Philip Shepherd, Christopher Dean isbn 0-19-963722-9; Antibodies: A Laboratory Manual by Ed Harlow, David Lane ISBN: 0879693142; Using Antibodies : A Laboratory Manual : Portable Protocol NO. by Edward Harlow, David Lane, Ed Harlow ISBN: 0879695447).

Im Folgenden wird der Herstellungsprozess von Antikörpern kurz beschrieben, Details sind den zitierten Publikationen zu entnehmen. Zunächst werden Tiere (z.B. Kaninchen) durch eine erste Injektion des gewünschten Zielproteins immunisiert. Durch eine zweite oder dritte Immunisierung innerhalb eines definierten Zeitraums (ca. 2-4 Wochen nach der vorangegangenen Immunisierung) lässt sich die Immunantwort des Tieres gegen das Immunogen verstärken. Wiederum nach verschiedenen definierten Zeitabständen (1. Blutung nach 4 Wochen, anschließend ca. alle 2 Wochen mit insgesamt bis zu 5 Entnahmen) wird den Tieren Blut entnommen und daraus ein Immuneserum gewonnen.

Die Immunisierung der Tiere erfolgt in der Regel über eines von vier gut etablierten Verfahren, wobei auch andere Verfahren verfügbar sind. Immunisiert werden kann dabei mit Peptiden, die für das Zielprotein spezifisch sind, dem gesamten Protein oder mit extrazellulären Teilsequenzen eines Proteins, das experimentell oder über Prediktionsprogramme identifiziert werden kann.

(1) Im ersten Fall werden an KLH (keyhole limpet hemocyanin) konjugierte-Peptide (Länge: 8-12 Aminosäuren) über ein standardisiertes in vitro-Verfahren synthetisiert und diese Peptide zur Immunisierung verwendet. In der Regel erfolgen 3 Immunisierungen mit einer Konzentration von 5-1000 µg/Immunisierung. Die Durchführung der Immunisierung kann auch als Service von Dienstleistern erfolgen.

(2) Alternativ kann die Immunisierung durch rekombinante Proteine erfolgen. Dazu wird die klonierte DNA des Zielgens in einen Expressionsvektor kloniert und das Zielprotein analog den Bedingungen des jeweiligen Herstellers (z.B. Roche Diagnostics, Invitrogen, Clontech, Qiagen) z.B. zellfrei in vitro, in Bakterien (z.B. E. coli), in Hefe (z.B. S. pombe), in Insektenzellen oder in mammalen Zellen synthetisiert. Nach Synthese in einem der Systeme wird das Zielprotein aufgereinigt, wobei die Aufreinigung dabei in der Regel über standardisierte chromatografische Methoden erfolgt. Dabei können auch Proteine für die Immunisierung verwendet werden, die über einen molekularen Anker als Hilfsmittel zur Reinigung verfügen (z.B. His-Tag, Qiagen; FLAG-Tag, Roche Diagnostics; Gst-Fusionsproteine). Eine



Vielzahl von Protokollen finden sich z.B. in den „Current Protocols in Molecular Biology“, John Wiley & Sons Ltd., Wiley InterScience.

(3) Falls eine Zelllinie zur Verfügung steht, die das gewünschte Protein endogen synthetisiert, kann auch diese Zelllinie zur Herstellung des spezifischen Antiserums verwendet werden. Die Immunisierung erfolgt dabei in 1-3 Injektionen mit jeweils ca.  $1-5 \times 10^7$  Zellen.

(4) Die Immunisierung kann auch durch Injektion von DNA (DNA Immunisierung) erfolgen. Dazu wird das Zielgen zunächst in einen Expressionsvektor kloniert, so dass die Zielsequenz unter der Kontrolle eines starken eukaryontischen Promotors steht (z.B. CMV-Promotor). Anschließend werden 5-100 µg DNA als Immunogen mit einer „gene gun“ in stark durchblutete, kapillare Bereiche eines Organismus transferiert (z.B. Maus, Kaninchen). Die transferierte DNA wird von Zellen des Tieres aufgenommen, das Zielgen wird exprimiert und das Tier entwickelt schließlich eine Immunantwort gegen das Zielgen (Jung et al., Mol Cells 12: 41-49, 2001; Kasinrerck et al., Hybrid Hybridomics 21: 287-293, 2002).

#### Qualitätskontrolle des polyklonalen Serums bzw. Antikörpers

Zum Spezifitätsnachweis eignen sich am besten auf Zellkultur-basierende Tests mit anschließendem Western-Blot (verschiedene Variationen sind z.B. in „Current Protocols in Proteinchemistry“, John Wiley & Sons Ltd., Wiley InterScience, beschrieben). Für den Nachweis werden Zellen mit einer cDNA für das Zielprotein transfiziert, die unter der Kontrolle eines starken eukaryontischen Promotors steht (z.B. Cytomegalovirus-Promotor). Zur Transfektion von Zelllinien mit DNA sind die verschiedensten Verfahren (z.B. Elektroporation, auf Liposomen basierende Transfektion, Kalziumphosphatpräzipitation) gut etabliert (z.B. Lemoine et al., *Methods Mol. Biol.* 75: 441-7, 1997). Alternativ können auch Zelllinien verwendet werden, die das Zielgen endogen exprimieren (Nachweis über Zielgenspezifische RT-PCR). Zur Kontrolle werden im Experiment im Idealfall homologe Gene mit transfiziert, um im folgenden Western-Blot die Spezifität des analysierten Antikörpers nachweisen zu können.

Im anschließenden Western-Blot werden Zellen aus Zellkultur oder Gewebeproben, die das Zielprotein enthalten könnten, in einer 1%igen SDS Lösung lysiert und die Proteine dabei denaturiert. Die Lysate werden auf 8-15%igen denaturierenden Polyacrylamidgelen (enthalten 1% SDS) der Größe nach elektrophoretisch aufgetrennt (SDS-Polyacrylamid-

Gelelektrophorese, SDS-PAGE). Anschließend werden die Proteine durch eines von mehreren Blotting-Verfahren (z.B. semi-dry Elektroblood; Biorad) auf eine spezifische Membran transferiert (z.B. Nitrozellulose, Schleicher & Schüll). Auf dieser Membran kann das gewünschte Protein sichtbar gemacht werden. Dazu wird die Membran zunächst mit dem Antikörper, der das Zielprotein erkennt (Verdünnung ca. 1:20-1:200, je nach Spezifität des Antikörpers), für 60 Minuten inkubiert. Nach einem Waschschrift wird die Membran mit einem zweiten, mit einem Marker (z.B. Enzyme wie Peroxidase oder alkalische Phosphatase) gekoppelten Antikörper inkubiert, der den ersten Antikörper erkennt. In einer Farb- oder chemilumineszenten Reaktion kann anschließend das Zielprotein auf der Membran sichtbar gemacht werden (z.B. ECL, Amersham Bioscience). Ein Antikörper mit einer hohen Spezifität für das Zielprotein sollte im Idealfall nur das gewünschte Protein selbst erkennen.

Zur Bestätigung der im in silico-Ansatz identifizierten Membranlokalisation des Zielproteins werden verschiedene Verfahren verwendet. Ein wichtiges und gut etabliertes Verfahren unter Verwendung der vorstehend beschriebenen Antikörper ist die Immunfluoreszenz (IF). Dazu werden Zellen etablierter Zelllinien benutzt, die entweder das Zielprotein synthetisieren (Nachweis der RNA in der RT-PCR oder des Proteins im Western-Blot) oder aber mit Plasmid-DNA transfiziert worden sind. Zur Transfektion von Zelllinien mit DNA sind die verschiedensten Verfahren (z.B. Elektroporation, auf Liposomen basierende Transfektion, Kalziumphosphatpräzipitation) gut etabliert (z.B. Lemoine et al., *Methods Mol. Biol.* 75: 441-7, 1997). Das in die Zellen transfizierte Plasmid kann bei der Immunfluoreszenz das unmodifizierte Protein kodieren oder aber auch unterschiedliche Aminosäuremarker an das Zielprotein koppeln. Die wichtigsten Marker sind z.B. das fluoreszierende „green fluorescent protein“ (GFP) in seinen verschiedenen differentiell fluoreszierenden Formen, kurze Peptidsequenzen von 6-12 Aminosäuren, für die hoch affine und spezifische Antikörper zur Verfügung stehen, oder die kurze Aminosäuresequenz Cys-Cys-X-X-Cys-Cys, die über ihre Cysteine spezifische fluoreszierende Substanzen binden kann (Invitrogen). Zellen, die das Zielprotein synthetisieren, werden z.B. mit Paraformaldehyd oder Methanol fixiert. Anschließend können die Zellen bei Bedarf durch Inkubation mit Detergenzien (z.B. 0,2% Triton X-100) permeabilisiert werden. Anschließend werden die Zellen mit einem primären Antikörper inkubiert, der gegen das Zielprotein oder gegen einen der gekoppelten Marker gerichtet ist. Nach einem Waschschrift wird der Ansatz mit einem zweiten, mit einem fluoreszierenden Marker (z.B. Fluorescein, Texas Red, Dako) gekoppelten Antikörper inkubiert, der an den ersten Antikörper bindet. Anschließend werden die so markierten Zellen

mit Glycerin überschichtet und mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops nach den Angaben des Herstellers analysiert. Spezifische Fluoreszenzemissionen werden dabei, abhängig von den eingesetzten Substanzen, durch spezifische Anregung erreicht. Die Analyse erlaubt in der Regel die sichere Lokalisation des Zielproteins, wobei zur Bestätigung der Antikörperqualität und des Zielproteins in Doppelfärbungen zusätzlich zum Zielprotein auch die gekoppelten Aminosäuremarker oder andere Markerproteine angefärbt werden, deren Lokalisation bereits in der Literatur beschrieben ist. Ein Sonderfall stellt das GFP und seine Derivate dar, die direkt angeregt werden können und selbst fluoreszieren. Die Membranpermeabilität, die durch den Einsatz von Detergenzien gesteuert werden kann, erlaubt in der Immunfluoreszenz den Nachweis, ob ein immunogenes Epitop innerhalb oder außerhalb der Zelle lokalisiert ist. Die Prädiktion der ausgewählten Proteine kann so experimentell untermauert werden. Alternativ kann der Nachweis von extrazellulären Domänen mittels Durchflusszytometrie erfolgen. Dazu werden Zellen unter nicht permeabilisierenden Bedingungen (z.B. mit PBS/Na-Azid/2% FCS/ 5 mM EDTA) fixiert und im Durchflusszytometer nach Angaben des Herstellers analysiert. Nur extrazelluläre Epitope können bei diesem Verfahren von dem zu analysierenden Antikörper erkannt werden. Im Unterschied zur Immunfluoreszenz kann durch Verwendung von z.B. Propidiumiodid oder Trypanblau zwischen toten und lebenden Zellen unterschieden werden und damit falsch positive Ergebnisse vermieden werden.

## 20 Affinitätsreinigung

Die Reinigung der polyklonalen Seren erfolgte im Fall der Peptidantikörper gänzlich oder im Fall der Antikörper gegen rekombinante Proteine teilweise als Service durch die beauftragten Firmen. Hierzu wurde in beiden Fällen das entsprechende Peptid bzw. rekombinante Protein kovalent an eine Matrix gebunden, diese nach der Kopplung mit einem nativen Puffer (PBS: phosphate buffered saline) äquilibriert und im Anschluß mit dem Rohserum inkubiert. Nach einem weiteren Waschschrift mit PBS wurde der Antikörper mit 100 mM Glycin, pH 2,7 eluiert und das Eluat sogleich in 2 M TRIS, pH 8 neutralisiert. Die so gereinigten Antikörper konnten dann zur spezifischen Detektion der Zielproteine sowohl durch Westernblotting als auch durch Immunfluoreszenz eingesetzt werden.

## 30 Herstellung von EGFP-Transfektanten

Für die Immunfluoreszenz-Mikroskopie von heterolog exprimierten Tumor-assoziierten Antigenen wurde der komplette ORF der Antigene in pEGFP-C1- und pEGFP-N3-Vektoren (Clontech) kloniert. Auf Objektträgern kultivierte CHO- und NIH3T3-Zellen wurden mit den

entsprechenden Plasmidkonstrukten unter Verwendung von Eugene-Transfektionsreagenz (Roche) nach Herstellerangaben transfiziert und nach 12-24h mittels Immunfluoreszenz-Mikroskopie analysiert.

### Beispiel 1: Identifizierung von GPR35 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

GPR35 (SEQ ID NO:1) und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO: 9) wurden als putativer G-Protein-gekoppelter Rezeptor beschrieben. Die Sequenz ist in der Genbank unter der Zugangs-Nr. AF089087 veröffentlicht. Dieses Transkript kodiert für ein Protein von 309 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von 34 kDa. Es wurde prädiziert, dass GPR35 zur Super-Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren mit 7 Transmembran-Domänen gehört (O'Dowd et al., *Genomics* 47:310-13, 1998). Um die prädizierte Lokalisation von GPR35 in der Zelle zu bestätigen, wurde das Protein mit eGFP als Reportermolekül fusioniert und nach Transfektion des entsprechenden Plasmids heterolog in 293-Zellen exprimiert. Anschließend wurde die Lokalisation im Fluoreszenzmikroskop analysiert. Erfindungsgemäß wurde bestätigt, dass GPR35 ein integrales Transmembranmolekül ist (Abb. 17). Bisherige Untersuchung zu humanem GPR35 (s.u.a. Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, Li X, Orho-Melander M, Hara M, Hinokio Y, Lindner TH, Mashima H, Schwarz PE, del Bosque-Plata L, Horikawa Y, Oda Y, Yoshiuchi I, Colilla S, Polonsky KS, Wei S, Concannon P, Iwasaki N, Schulze J, Baier LJ, Bogardus C, Groop L, Boerwinkle E, Hanis CL, Bell GI *Nat Genet.* 2000 Oct;26(2):163-75) legten nahe, dass GPR35 in vielen gesunden Geweben aktiviert ist. Das Leseraster des Gens enthält ein einzelnes Exon. Erfindungsgemäß wurde mit einem Genspezifischen Primerpaar (SEQ ID NO: 20, 21) für GPR35 in RT-PCR-Analysen cDNA im Kolon und im Kolonkarzinom (13/26) amplifiziert. Dagegen ist eine signifikante Expression in anderen Normalgeweben nicht nachweisbar. Aufgrund der Besonderheit, dass GPR35 aus einem einzelnen Exon besteht, können genomische DNA-Verunreinigungen nicht mit Intron-überspannenden Primern nachgewiesen werden. Um eine genomische Verunreinigung der RNA-Proben auszuschließen, wurden deshalb alle RNAs mit DNase behandelt. Erfindungsgemäß wurden mit DNA-freier RNA GPR35-Transkripte nur im Kolon, im Enddarm, in Testis und in Dickdarmkarzinomen nachgewiesen.

**Tab. 1. GPR35 -Expression in Normalgeweben**

Normalgewebe	Expression
Gehirn	-
Cerebellum (Kleinhirn)	-
Herzmuskel	-
Skelettmuskel	-
Rektum	++
Magen	-
Kolon	++
Pankreas	-
Niere	-
Hoden	-
Thymus	-
Brustdrüse	-
Ovar	-
Uterus	n.d.
Haut	-
Lunge	-
Schilddrüse	-
Lymphknoten	-
Milz	-
PBMC	-
Nebenniere	-
Ösophagus	-
Dünndarm	+
Prostata	-

Die selektive und hohe Expression von GPR35-Transkripten im normalen Kolon-Gewebe, sowie in Kolon-Karzinom-Biopsien (Abb. 1) war bisher nicht bekannt und kann erfindungsgemäß für molekulare diagnostische Verfahren wie RT-PCR zum Nachweis disseminierender Tumorzellen im Serum und Knochenmark und zum Nachweis von Metastasen in anderen Geweben genutzt werden. Auch die quantitative RT-PCR mit spezifischen Primern (SEQ ID NO:88 und 89) bestätigt, dass GPR35 ein hochselektives darmspezifisches und auch in Darmtumoren und in Darmtumormetastasen erhaltenes Differenzierungsantigen ist. In einigen Darmtumoren ist es im Vergleich zum normalen Darm sogar um ein log überexprimiert (Abb. 18). Zum Nachweis von GPR35-Protein wurden Antikörper durch Immunisieren von Kaninchen hergestellt. Folgende Peptide wurden zur Propagierung dieser Antikörper genutzt:

SEQ ID NO:90 GSSDLTWPPAIKLG (AS 9-23)

SEQ ID NO:91: DRYVAVRHPLRARGLR (AS 112-127)

SEQ ID NO:92 VAPRAKAHKSQDSL (C-Terminus)

SEQ ID NO:93 CFRSTRHNFNSMR (extrazell. Domäne 2)

Färbungen mit diesen Antikörpern z.B. im Western-Blot bestätigen die Expression in Tumoren. Alle 4 extrazellulären Domänen von GPR35 (Position der prädierten extrazellulären Domänen in der Sequenz von SEQ ID NO:9: AS 1-22 (SEQ ID NO: 94); AS 81-94 (SEQ ID NO: 95); AS 156-176 (SEQ ID NO: 96); AS 280-309 (SEQ ID NO: 97))

können erfindungsgemäß als Zielstrukturen von monoklonalen Antikörpern genutzt werden. Diese Antikörper binden spezifisch an die Zelloberfläche von Tumorzellen und können sowohl für diagnostische als auch für therapeutische Verfahren genutzt werden. Die Überexpression von GPR35 in Tumoren unterstützt einen solchen Einsatz noch zusätzlich. Des weiteren können die für Proteine kodierenden Sequenzen erfindungsgemäß als Vakzine (RNA, DNA, Peptid, Protein) zur Induktion von Tumor-spezifischen Immun-Antworten (T-Zell- und B-Zell-vermittelte Immun-Reaktionen) genutzt werden. Darüberhinaus wurde überraschenderweise festgestellt, dass 5' vor dem allgemein bekannten Startcodon ein weiteres Startcodon existiert, welches ein N-terminal verlängertes Protein exprimiert.

Somit wurde erfindungsgemäß festgestellt, dass ein zuvor als ubiquitär exprimiert beschriebenes Protein, GPR35, selektiv in gastrointestinalen Tumoren, insbesondere in Tumoren des Dickdarms Tumor-assoziiert überexprimiert wird. GPR35 eignet sich daher insbesondere als molekulare Zielstruktur für die Diagnose und Behandlung dieser Tumoren. Bisherige Untersuchung zu humanem GPR35, vgl. z.B. Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, Li X,

Orho-Melander M, Hara M, Hinokio Y, Lindner TH, Mashima H, Schwarz PE, del Bosque-Plata L, Horikawa Y, Oda Y, Yoshiuchi I, Colilla S, Polonsky KS, Wei S, Concannon P, Iwasaki N, Schulze J, Baier LJ, Bogardus C, Groop L, Boerwinkle E, Hanis CL, Bell GI Nat Genet. 2000 Oct;26(2):163-75 legen nahe, dass GPR35 in vielen gesunden Geweben aktiviert ist. Die erfindungsgemäßen Untersuchungen zeigten dagegen, dass GPR35 in den meisten Normalgeweben überraschenderweise nicht signifikant nachweisbar ist und im Gegensatz dazu stark in primären und metastasierenden Dickdarmtumoren aktiviert ist. Ferner wurde erfindungsgemäß neben der beschriebenen GPR35-Sequenz eine neue Translationsvariante gefunden, die von einem alternativen Startcodon Gebrauch macht (SEQ ID NO: 10).

GPR35 ist ein Mitglied der Gruppe von G-gekoppelten Rezeptoren (GPCR), eine sehr große Proteinfamilie, die strukturell und funktionell sehr gut untersucht ist. GPCR eignen sich hervorragend als Zielstrukturen für die Entwicklung pharmazeutisch wirksamer Substanzen, da die dafür notwendigen Verfahren (z.B. Rezeptorexpression, Aufreinigung, Ligandenscreening, Mutagenisierung, funktionelle Inhibition, Auswahl agonistischer und antagonistischer Liganden, radioaktive Markierung von Liganden) sehr gut entwickelt und ausführlich beschrieben sind, vgl. z.B. „G Protein-Coupled Receptors“ von Tatsuya Haga, Gabriel Berstein und Gabriel Bernstein ISBN: 0849333849 bzw. in „Identification and Expression of G-Protein Coupled Receptors Receptor Biochemistry and Methodology“ von Kevin R. Lynch ASIN: 0471183105. Die erfindungsgemäße Erkenntnis, dass GPR35 in den meisten gesunden Geweben nicht nachweisbar ist, jedoch Tumor-assoziiert an der Zelloberfläche exprimiert wird, ermöglicht dessen Verwendung als Tumor-assoziierte Zielstruktur z.B. für pharmazeutisch aktive Liganden, insbesondere in Konjugation z.B. mit radioaktiven Molekülen als pharmazeutische Substanzen. In einer besonderen Ausführungsform können radioaktiv markierte Liganden, die an GPR35 binden, zum Nachweis von Tumorzellen oder zur Behandlung von Dickdarmtumoren in vivo verwendet werden.



## Beispiel 2: Identifizierung von GUCY2C in Leber- und Ovarialtumoren und neuen GUCY2C-Spleißvarianten als diagnostische und therapeutische Krebs-Targets

- 5 Die Guanylatcyclase 2C (SEQ ID NO:2; Translationsprodukt: SEQ ID NO: 11) – ein Typ I Transmembranprotein - gehört zur Familie der natriuretischen Peptidrezeptoren. Die Sequenz ist in der Genbank unter der Zugangsnummer NM\_004963 veröffentlicht. Durch Bindung der Peptide Guanylin bzw. Uroguanylin oder auch hitzestabiler Enterotoxine (STa) wird die intrazelluläre cGMP-Konzentration erhöht, wodurch Signaltransduktionsprozesse innerhalb
- 10 der Zelle induziert werden.
- Neuere Untersuchungen weisen darauf hin, dass sich die Expression von GUCY2C auch auf extraintestinale Bereiche, wie beispielsweise primäre und metastasierende Adenokarzinome des Magens und des Ösophagus erstreckt (Park et al., *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 11: 739-44, 2002). Eine Spleißvariante des GUCYC, die sowohl in normalem als auch
- 15 transformiertem Gewebe des Intestinums gefunden wird, beinhaltet eine 142 bp Deletion im Exon 1, wodurch die Translation eines GUCY2C-ähnlichen Produktes verhindert wird (Pearlman et al., *Dig. Dis. Sci.* 45:298-05, 2000). Die bisher beschriebene einzige Spleißvariante führt zu keinem Translationsprodukt.
- 20 Ein erfindungsgemäßes Ziel war, Tumor-assoziierte Spleißvarianten für GUCY2C zu identifizieren, die sowohl diagnostisch als auch therapeutisch nutzbar sind.
- RT-PCR-Untersuchungen mit einem GUCY2C-spezifischen Primerpaar (SEQ ID NO: 22, 23, 98, 99) zeigen eine ausgeprägte Expression von GUCY2C-Transkripten im normalen Kolon und Magen sowie eine schwache Expression in Leber, Testis, Ovar, Thymus, Milz, Gehirn
- 25 und Lunge (Tab. 2, Abb. 19). Die Expression in Kolon und Magen war dabei mindestens 50-fach höher als in allen anderen Normalgeweben. Ausgeprägte GUCY2C-Transkript-Spiegel wurden im Kolon- und Magen-Karzinom nachgewiesen (Tab. 2). Diese Ergebnisse wurden durch eine quantitative PCR-Analyse präzisiert und zeigten eine ausgeprägte GUCY2C-Expression im normalen Kolon, Ileum, sowie in fast allen untersuchten Kolon-Karzinom-
- 30 Proben (Abb. 2, 19B). In manchen Kolonkarzinomproben war eine massive Überexpression nachweisbar. Weiterhin findet sich eine Expression in 7/10 Magentumoren. Darüberhinaus stellten wir überraschenderweise fest, dass das Gen in vielen anderen bisher nicht beschriebenen Tumoren u.a. Ovarial-, Brust-, Leber- und Prostatatumoren aktiviert ist (Abb. 19B, Tab. 2).

Tabelle 2: GUC2C-Expression in Normal- und Tumorgeweben

Normalgewebe	Expression	Tumortyp	Expression
Gehirn	+	Kolonkarzinom	+++
Cerebellum		Pankreaskarzinom	-
Myokard		Ösophaguskarzino	-
Skelettmuskel	-	Magenkarzinom	+++
Herzmuskel		Bronchialkarzinom	-
Magen	+++	Mammakarzinom	-+
Kolon (Dickdarm)	+++	Ovarialkarzinom	+
Pankreas	-	Endometriumkarzi	
Niere	-	HNO-Tumoren	
Leber	+	Nierenzellkarzino	
Testis (Hoden)	++	Prostatakarzinom	+
Thymus	+	Leberkarzinom	+
Mamma (Brust)	-		
Ovar	+		
Uterus	+		
Haut			
Lunge	+		
Thyroid			
Lymphknoten	-		
Milz	+		
PBMC	-		
Prostata	-		

Für die Detektion von Spleißvarianten in Kolon- und Kolonkarzinomgewebe wurden folgende Primerpaare verwendet: GUCY2C-118s/GUCY2C-498as (SEQ ID NO:24, 29); GUCY2C-621s/GUCY2C-1140as (SEQ ID NO:25, 30); GUCY2C-1450s/GUCY2C-1790as (SEQ ID NO:26, 31); GUCY2C-1993s/GUCY2C-2366as (SEQ ID NO:27, 32); GUCY2C-2717s/GUCY2C-3200as (SEQ ID NO:28, 33); GUCY2C-118s/GUCY2C-1140as (SEQ ID NO:24, 30); GUCY2C-621s/GUCY2C-1790as (SEQ ID NO:25, 31); GUCY2C-1450s/GUCY2C-2366as (SEQ ID NO:26, 32); GUCY2C-1993s/GUCY2C-3200as (SEQ ID NO:27, 33).

Bei der Untersuchung von Spleißvarianten im Kolonkarzinomgewebe wurden erfindungsgemäß drei bisher unbekannte Formen identifiziert.

- a) Eine Deletion von Exon 3 (SEQ ID NO: 3), die zu einer nur 111 Aminosäuren langen Variante der GUCY2C führt, bei der das Asparagin an Position 111 durch ein Prolin ersetzt ist.
- b) Eine Deletion von Exon 6 (SEQ ID NO: 4), die in einem 258 Aminosäuren langen Expressionprodukt resultiert. C-terminal entstünde hierbei ein 13 Aminosäuren umfassendes Neopepitop.
- c) Eine Variante bei der die Nukleotide an den Positionen 1606-1614 bzw. die korrespondierenden Aminosäuren L(536), L(537) und Q(538) deletiert sind (SEQ ID NO: 5).

Die erfindungsgemäßen Spleißvarianten mit Deletionen im Exon 3, bzw. Exon 6 (SEQ ID NO: 3, 4) zeichnen sich vor allem dadurch aus, dass die Translationsprodukte (SEQ ID NO: 12, 13) über keine Transmembrandomäne verfügen. Im Fall der Exon 6-Deletion entsteht C-terminal ein Neopepitop von 13 Aminosäuren, welches keinerlei Homologie zu bisher bekannten Proteinen aufweist. Dadurch ist dieses Neopepitop als Zielstruktur für eine Immuntherapie prädestiniert. Die erfindungsgemäße Spleißvariante mit Basendeletionen an den Positionen 1606-1614 (SEQ ID NO: 5) und ihr Translationsprodukt (SEQ ID NO: 14) beinhaltet ebenfalls ein Neopepitop. Zum Nachweis von GUCY2C-Protein wurden Antikörper durch Immunisieren von Kaninchen hergestellt. Folgende Peptide wurden zur Propagierung dieser Antikörper genutzt:

SEQ ID NO:100: HNGSYEISVLMMGNS (AS 31 – 45)

SEQ ID NO:101: NLPTPPTVENQQRLA (AS 1009 – 1023)

Solche Antikörper können prinzipiell für diagnostische wie auch therapeutische Zwecke genutzt werden.

Insbesondere die extrazelluläre Domäne von GUCY2C (Position der prädizierten extrazellulären Domäne aus der Sequenz von SEQ ID NO:11: AS 454-1073 (SEQ ID NO: 102)) kann erfindungsgemäß als Zielstruktur von monoklonalen Antikörpern genutzt werden.

Allerdings ist die Strukturvorhersage nicht ganz eindeutig und experimentell noch nicht belegt, so dass auch eine alternative Membranorientierung denkbar ist. In diesem Fall würden die Aminosäuren 1-431 extrazellulär sein und sich als Ansatzpunkt für monoklonale Antikörper eignen. Diese Antikörper binden spezifisch an die Zelloberfläche von Tumorzellen und können sowohl für diagnostische als auch für therapeutische Verfahren genutzt werden. Die Überexpression von GUCY2C, insbesondere in den Kolontumoren

unterstützt einen solchen Einsatz noch zusätzlich. Des weiteren können die für Proteine kodierenden Sequenzen erfindungsgemäß als Vakzine (RNA, DNA, Peptide, Protein) zur Induktion von Tumor-spezifischen Immun-Antworten (T-Zell- und B-Zell-vermittelte Immun-Reaktionen) genutzt werden.

- 5 Des weiteren können entsprechend der zellulären Funktion des GUCY2C-Moleküls erfindungsgemäß Substanzen, insbesondere kleine Moleküle entwickelt werden, die die Funktion des Enzyms auf Tumorzellen modulieren. Das Produkt der Enzymreaktion, cGMP, ist ein bekanntes zelluläres Signalmolekül mit unterschiedlichsten Funktionen (Tremblay et al. Mol Cell Biochem 230, 31).

### **Beispiel 3: Identifizierung von SCGB3A2 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target**

- 10 SCGB3A2 (SEQ ID NO: 6) (Translationsprodukt: SEQ ID NO: 15) gehört zur Genfamilie der Sekretoglobine. Die Sequenz ist in der GenBank unter der Zugangsnummer NM\_054023 veröffentlicht. SCGB3A2 (UGRP1) ist ein homodimerisches sekretorisches Protein von 17 kDa Größe, das ausschließlich in der Lunge und in den Tracheen exprimiert wird (Niimi et al., *Am J Hum Genet* 70:718-25, 2002). RT-PCR-Untersuchungen mit einem Primerpaar (SEQ ID NO: 37, 38) bestätigten eine selektive Expression in normalem Lungen-Gewebe. Lungen- und lufttröhrenspezifische Gene, z.B. für Surfactant-Proteine, werden in malignen Tumoren im Rahmen der Dedifferenzierung stark runterreguliert und lassen sich üblicherweise nicht in Lungentumoren nachweisen. Überraschenderweise wurde festgestellt, dass SCGB3A2 in primären und metastasierenden Lungentumoren aktiv ist. Die erfindungsgemäßen Untersuchungen zeigten, dass SCGB3A2 in Bronchialkarzinomen stark und frequent exprimiert wird (Abb. 4). Alle anderen getesteten 23 Normalgewebe weisen bis auf Lunge und Trachea keine Expression auf (vgl. Abb. 20).

Dies wurde mit einer spezifischen quantitativen RT-PCR (SEQ ID NO:103, 104) zusätzlich bestätigt (Abb. 20), die zusätzlich in mehr als 50% der Bronchialkarzinome eine Überexpression von mindestens einem log aufweist.

- 30 Die selektive und hohe Expression von SCGB3A2 im normalen Lungen-Gewebe, sowie in Lungen-Karzinom-Biopsien kann erfindungsgemäß für molekulare diagnostische Verfahren wie RT-PCR zum Nachweis disseminierender Tumorzellen im Blut und Knochenmark, Sputum, Bronchial-Aspirat oder Lavage und zum Nachweis von Metastasen in anderen Geweben z.B. in lokalen Lymphknoten genutzt werden. In der gesunden Lunge wird  
35 SCGB3A2 von spezialisierten Zellen ausschliesslich in die Bronchien ausgeschüttet.

Dementsprechend ist nicht zu erwarten, dass sich bei gesunden Individuen SCGB3A2-Protein in Körperflüssigkeiten ausserhalb der Atemwege nachweisen lässt. Dagegen sekretieren insbesondere metastasierende Tumorzellen ihre Proteinprodukte direkt in die Blutbahn. Ein Aspekt der Erfindung betrifft daher die Detektion von SCGB3A2-Produkten im Serum oder Plasma von Patienten über einen spezifischen Antikörpertest als diagnostischer Befund für Lungentumoren.

Zum Nachweis von SCGB3A2-Protein wurden Antikörper durch Immunisieren von Kaninchen hergestellt. Folgende Peptide wurden zur Propagierung dieser Antikörper genutzt:

SEQ ID NO:105: LINKVPLPVDKLAPL

SEQ ID NO:106: SEAVKKLLEALSHLV

Eine SCGB3A2-spezifische Reaktion konnte in der Immunfluoreszenz nachgewiesen werden (Abb. 21). Wie für ein sezerniertes Protein erwartet, ergab sich eine Verteilung von SCGB3A2 in der Zelle, die dem endoplasmatischen Retikulum und Sekretionsgranula zugeordnet werden konnte (Abb. 21A). Zur Spezifitätskontrolle wurden die Zellen parallel mit einem Plasmid transfiziert, dass ein SCGB3A2-GFP-Fusionsprotein synthetisiert. Der Proteinnachweis erfolgte hier über das autofluoreszierende GFP (grünes fluoreszierendes Protein) (Abb. 21B). Eine Überlagerung beider Fluoreszenzbilder zeigt eindeutig, dass das Immunsereum spezifisch SCGB3A2-Protein erkennt (Abb. 21C).

Solche Antikörper können erfindungsgemäß z.B. in Form von Immuntests für diagnostische wie auch therapeutische Zwecke genutzt werden.

#### **Beispiel 4: Identifizierung von Claudin-18A1- und Claudin-18A2-Spleißvarianten als diagnostische und therapeutische Krebs-Targets**

Das Claudin-18-Gen kodiert für ein Oberflächenmembranmolekül mit 4 Transmembrandomänen und intrazellulärem N- wie auch C-Terminus. Niimi und Kollegen (*Mol. Cell. Biol.* 21:7380-90, 2001) beschrieben zwei Spleißvarianten des Maus- und humanen Claudin-18, die als selektiv in Lungengewebe (Claudin-18A1) bzw. in Magengewebe (Claudin-18A2) exprimiert beschrieben wurden. Diese Varianten unterscheiden sich im N-Terminus (Abb. 22).

Erfindungsgemäß wurde untersucht, inwieweit die Spleißvarianten Claudin-18A2 (SEQ ID NO :7) und Claudin-18A1 (SEQ ID NO: 117) sowie ihre jeweiligen Translationsprodukte (SEQ ID NO:16 und 118) als Marker bzw. therapeutische Zielstrukturen für Tumoren genutzt

werden können. Es wurde eine quantitative PCR, die zwischen beiden Varianten unterscheiden kann, etabliert, indem A1-spezifische (SEQ ID NO 109 & 110) bzw. A2-spezifische (SEQ ID NO 107 & 108) Primerpaare ausgewählt wurden. Die Spleißvariante A2 wurde zusätzlich mit einem zweiten Primerpaar in einer konventionellen PCR getestet (SEQ ID NO: 39 & 40). Für die Variante A1 ist beschrieben, dass sie nur in der normalen Lunge aktiv ist. Jedoch wurde erfindungsgemäß überraschenderweise festgestellt, dass die Variante A1 auch in der Magenschleimhaut aktiv ist. Magen und Lunge sind die einzigen Normalgewebe, die eine signifikante Aktivierung aufweisen. Alle anderen Normalgewebe sind negativ für Claudin-A1. Bei der Untersuchung von Tumoren wurde überraschend festgestellt, dass Claudin-A1 in einer Vielzahl von Tumorgeweben stark aktiviert ist. Ein besonders starke Expression findet sich in Magentumoren, Lungentumoren, Pankreaskarzinomen, Speiseröhrenkarzinomen (Abb. 23), Tumoren des HNO-Bereichs und Prostatakarzinomen. Die Expressionslevel von Claudin-A1 in HNO-, Prostata-, Pankreas- und Speiseröhrentumoren sind 100-10000 höher als die Level in dem korrespondierenden Normalgeweben. Für die Untersuchung der Claudin-A2-Spleißvariante wurden Oligonukleotide verwendet, die spezifisch die Amplifikation dieses Transkripts ermöglichen (SEQ ID NO: 39 & 40 bzw. 107 & 108). Die Untersuchung ergab, dass die Spleißvariante A2 in keinem der mehr als 20 untersuchten Normalgewebe außer in Magenschleimhaut und in geringem Ausmaß auch Testisgewebe exprimiert wird. Wir stellten fest, dass wie die Variante A1 auch die Variante A2 in vielen Tumoren aktiviert ist (beispielhaft dargestellt in Abb. 24). Hierzu zählen Magentumore (8/10), Bauchspeicheldrüsentumoren (6/6), Speiseröhrenkarzinome (5/10) und Leberkarzinome. Obwohl sich in gesunder Lunge keine Aktivierung von Claudin-18A2 nachweisen lässt, wurde überraschend festgestellt, dass ein Teil der Lungentumoren die Spleißvariante A2.1 exprimieren.

Tabelle 3A. Expression von Claudin-18A2 in Normal- und Tumor-Geweben

Normalgewebe	Expression	Tumortyp	Expression
Gehirn	-	Colonkarzinom	-
Cerebellum	-	Pankreaskarzinom	++
Myokard	-	Ösophaguskarzinom	++
Skelettmuskel	-	Magenkarzinom	+++
Endometrium	-	Bronchialkarzinom	++
Magen	+++	Mammakarzinom	-
Colon (Dickdarm)	-	Ovarialkarzinom	-
Pankreas	-	Endometriumkarzino	n.u.
Niere	-	HNO-Tumoren	++
Leber	-	Nierenzellkarzinom	-
Testis (Hoden)	+	Prostatakarzinom	-
Thymus	-		
Mamma (Brust)	-		
Ovar	-		
Uterus	-		
Haut	-		
Lunge	-		
Thyroid	-		
Lymphknoten	-		
Milz	-		
PBMC	-		
Ösophagus	-		

Tabelle 3B. Expression von Claudin-18A1 in Normal- und Tumor-Geweben

Normalgewebe	Expression	Tumortyp	Expression
Gehirn	-	Colonkarzinom	-
Cerebellum	-	Pankreaskarzinom	++
Myokard	-	Ösophaguskarzinom	++
Skelettmuskel	-	Magenkarzinom	+++
Endometrium	-	Bronchialkarzinom	++
Magen	+++	Mammakarzinom	+
Colon (Dickdarm)	-	Ovarialkarzinom	n.u.
Pankreas	-	Endometriumkarzino	n.u.
Niere	-	HNO-Tumoren	++
Leber	-	Nierenzellkarzinom	-
Testis (Hoden)	+	Prostatakarzinom	++
Thymus	-		
Mamma (Brust)	-		
Ovar	-		
Uterus	-		
Haut	-		
Lunge	+++		
Thyroid	-		
Lymphknoten	-		
Milz	-		
PBMC	-		
Ösophagus	-		

Auch die konventionelle PCR als unabhängige Kontrolluntersuchung bestätigte die Resultate der quantitativen PCR. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 39, 40) verwendet, die eine spezifische Amplifikation der Spleißvariante A2 erlauben. Erfindungsgemäß wurde gezeigt, dass 8/10 Magenkarzinome und die Hälfte der getesteten Pankreaskarzinome eine starke Expression dieser Spleißvariante aufweisen (Abb. 5). Dagegen ist eine Expression mit konventioneller PCR in anderen Geweben nicht nachweisbar. Insbesondere findet sich in Lunge, Leber, Blut, Lymphknoten, Brust- und Nierengewebe keine Expression (Tab. 3).



Hiermit stellen die Spleißvarianten erfindungsgemäß hochspezifische molekulare Marker für Tumoren des oberen Magendarmtraktes wie auch Lungentumoren, HNO-Tumoren, Prostatakarzinome und ihre Metastasen dar. Diese molekulare Marker können erfindungsgemäß zum Nachweis von Tumorzellen genutzt werden. Die Detektion der Tumoren kann erfindungsgemäß mit den genannten Oligonukleotiden (SEQ ID NO. 39, 40, 107-110) erfolgen. Als Oligonukleotide eignen sich insbesondere Primerpaare, von denen mindestens einer unter stringenten Bedingungen an einen 180 Basenpaare langen Abschnitt des Transkripts bindet, der spezifisch für die eine (SEQ ID NO: 8) oder andere Spleißvariante (SEQ ID NO: 119) ist.

Um diese Daten auf Proteinebene zu bestätigen, wurden Claudin-spezifische Antikörper bzw. Immunseren durch Immunisierung von Tieren generiert. Über Analyse der Transmembrandomänen mit bioinformatischen Werkzeugen (TMHMM, TMPRED) und Immunfluoreszenzuntersuchungen von Zellen, die mit enhanced GFP getagte Claudin-18-Fusionsproteine exprimieren, wurde die Plasmamembranlokalisation von Claudin-18 und die Proteintopologie bestätigt. Claudin 18 besitzt zwei extrazelluläre Domänen. Die N-terminale extrazelluläre Domäne unterscheidet sich in der Sequenz bei den beiden Spleißvarianten (SEQ ID NO: 111 für A1 und SEQ ID NO: 112 für A2). Die C-terminale extrazelluläre Domäne ist für beide Varianten identisch (SEQ ID NO: 137). Bisher sind noch keine Antikörper beschrieben, die an die extrazelluläre Domänen von Claudin-18 binden. Erfindungsgemäß wurden für die Immunisierung extrazellulär gelegene Peptid epitope ausgewählt, die spezifisch für die Variante A1 oder A2 sind bzw. in beiden Varianten vorkommen. Beide Varianten von Claudin-18 haben keine klassischen Glykosylierungsmotive und eine Glykosylierung des Proteins war daher nicht zu erwarten. Trotzdem wurde bei der Auswahl der Epitope berücksichtigt, dass Epitope, die Asparagin, Serin, Threonin enthalten in seltenen Fällen auch ohne klassische Glykosylierungsstellen potentiell glykosyliert sind. Die Glykosylierung eines Epitops kann die Bindung eines für dieses Epitop-spezifischen Antikörpers verhindern. Erfindungsgemäß wurden u.a. Epitope so ausgewählt, dass die damit generierten Antikörper eine Unterscheidung des Glykosylierungsstatus des Antigens erlauben. Unter anderem wurden zur Immunisierung folgende Peptide für die Herstellung von Antikörpern ausgewählt:

SEQ ID NO: 17: DQWSTQDLYN (N-terminal-extrazelluläre Domäne, A2-spezifisch, Bindung unabhängig von Glykosylierung)

SEQ ID NO: 18: NNPVTAVFNYQ (N-terminal-extrazelluläre Domäne, A2-spezifisch, Bindung hauptsächlich an unglykosylierte Form, N37)

SEQ ID NO: 113: STQDLYNNPVTAVF (N-terminal-extrazelluläre Domäne, A2-spezifisch, Bindung nur an nicht glykosylierte Form, N37)

SEQ ID NO: 114: DMWSTQDLYDNP (N-terminal-extrazelluläre Domäne, A1-spezifisch)

SEQ ID NO: 115: CRPYFTILGLPA (N-terminal-extrazelluläre Domäne, hauptsächlich

5 spezifisch für A1)

SEQ ID NO: 116: TNFWMSTANMYTG (C-terminal-extrazelluläre Domäne, erkennt sowohl A1 als auch A2).

Beispielhaft werden die Daten für den A2-spezifischen Antikörper, der durch Immunisierung mit SEQ ID NO: 17 hergestellt wurde, dargestellt. Der spezifische Antikörper lässt sich unter

10 verschiedenen Fixationsbedingungen für Immunfluoreszenz-Untersuchungen nutzen. Bei vergleichenden Färbungen von RT-PCR-positiven wie auch negativen Zelllinien ist das entsprechende Protein in gut nachweisbarer Menge spezifisch in den als positiv typisierten Magenkarzinom-Zelllinien detektierbar (Abb. 25). Das endogene Protein ist membranlokalisiert und bildet größere fokale Aggregate an der Membran. Dieser Antikörper

15 wurde des weiteren für einen Proteinnachweis im Western-Blot eingesetzt. Erwartungsgemäß wird Protein lediglich in Magen und keinem anderen Normalgewebe, auch nicht Lunge detektiert (Abb. 29). Bei der vergleichenden Färbung von Magentumoren und adjazentem normalem Magengewebe aus Patienten fiel überraschend auf, dass in allen Magentumoren, in denen Claudin-18 A2 detektiert wird, dieses Protein ein kleineres Massengewicht hat (Abb.

20 30, links). In einer Serie von Experimenten wurde erfindungsgemäß festgestellt, dass eine Bande auf dieser Höhe sich auch ergibt, wenn man Lysat normalen Magengewebes mit dem deglykosylierenden Agens PNGase F behandelt (Abb. 30, rechts). Während in allen normalen Magengeweben ausschließlich die glykosylierte Form der Variante A2 nachweisbar ist, ist A2 als solches in über 60% der untersuchten Magenkarzinome und zwar ausschließlich in der

25 deglykosylierten Form nachweisbar. Obwohl die A2-Variante von Claudin-18 in normaler Lunge auch auf Proteinebene nicht detektiert wird, ist sie wie auch schon in der quantitativen RT-PCR in Bronchialkarzinomen zu finden. Auch hier liegt lediglich die deglykosylierte Variante vor (Abb. 31). Erfindungsgemäß sind Antikörper hergestellt worden, die die extrazelluläre Domäne der Spleißvariante Claudin-18-A2 erkennen. Des weiteren wurden

30 Antikörper hergestellt, die selektiv die N-terminale Domäne der Spleißvariante Claudin-18-A1 erkennen (Abb. 28) bzw. Antikörper, die an beide Varianten im Bereich der C-terminal-extrazellulären Domäne binden (Abb. 27). Erfindungsgemäß können derartige Antikörper für diagnostische Zwecke z.B. Immunhistologie (Abb. 32) aber auch für therapeutische Zwecke wie oben erläutert verwendet werden. Ein weiterer wichtiger Aspekt betrifft differentiell

glykosylierte Domänen von Claudin-18. Erfindungsgemäß wurden Antikörper hergestellt, die exklusiv an nicht-glykosylierte Epitope binden. Claudin-18 selbst ist ein hochselektives Differenzierungsantigen von Magengewebe (A2) bzw. von Lunge und Magen (A1). Da es offensichtlich von Veränderungen der Glykosylierungsmaschinerie in Tumoren betroffen ist, entsteht in Tumoren eine besondere Variante von A2, die deglykosyliert ist. Dies kann diagnostisch wie auch therapeutisch genutzt werden. Immunseren, wie das hier beschriebene (gegen Peptid SEQ ID NO: 17) können z.B. im Western-Blot diagnostisch genutzt werden. Antikörper, die an das glykosylierte Epitop gar nicht binden können, wie z.B. durch Immunisierung mit Peptid SEQ ID NO: 113 (Abbildung 26) erhalten, können in der Bindung Tumor- von Normalgewebe unterscheiden. Insbesondere können solche Antikörper therapeutisch eingesetzt werden, da sie hochselektiv sind. Die hergestellten Antikörper können direkt auch zur Herstellung von chimären oder humanisierten rekombinanten Antikörpern verwendet werden. Dies kann auch direkt mit Antikörpern erfolgen, die aus Kaninchen gewonnen wurden (s. dazu J Biol Chem. 2000 May 5;275(18):13668-76 von Rader C, Ritter G, Nathan S, Elia M, Gout I, Jungbluth AA, Cohen LS, Welt S, Old LJ, Barbas CF 3rd. „The rabbit antibody repertoire as a novel source for the generation of therapeutic human antibodies“). Hierzu wurden von den immunisierten Tieren Lymphozyten asserviert. Auch für immuntherapeutische Verfahren wie Vakzinen bzw. den adoptiven Transfer von Antigen-spezifischen T-Lymphozyten stellen die Aminosäuren 1-47 (SEQ ID NO: 19 und 120) besonders gute Epitope dar.

**Beispiel 5: Identifizierung von SLC13A1 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target**

SLC13A1 gehört zur Familie der Natrium-Sulfat-Cotransporter. Das humane Gen ist im  
5 Gegensatz zum Maus-Homolog dieses Gens selektiv in der Niere exprimiert (Lee et al.,  
*Genomics* 70:354-63). SLC13A1 kodiert für ein Protein von 595 Aminosäuren und enthält 13  
putative Transmembran-Domänen. Durch alternatives Spleißen entstehen 4 verschiedene  
Transkripte (SEQ ID NO: 41-44) und seine entsprechenden Translationsprodukte (SEQ ID  
NO: 45-48). Es wurde untersucht, ob SLC13A1 als Marker für Nierentumore genutzt werden  
10 kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 49, 50) verwendet, die eine spezifische  
Amplifikation von SLC13A1 ermöglichen.

Tab.4. Expression von SLC13A1 in Normal- und Tumorgeweben

Normalgewebe	Expression
Gehirn	-
Cerebellum	nd
Myokard	nd
Skelettmuskel	nd
Herzmuskel	-
Magen	-
Kolon (Dickdarm)	-
Pankreas	nd
Niere	+++
Leber	-
Testis (Hoden)	+
Thymus	-
Mamma (Brust)	-
Ovar	-
Uterus	nd
Haut	nd
Lunge	-
Thyroid	-
Lymphknoten	-
Milz	-
PBMC	-
Sigma	-
Ösophagus	-

Tumortyp	Expression
Kolonkarzinom	nd
Pankreaskarzinom	nd
Ösophaguskarzinom	nd
Magenkarzinom	nd
Bronchialkarzinom	nd
Mammakarzinom	nd
Ovarialkarzinom	nd
Endometriumkarzinom	nd
HNO-Tumoren	nd
Nierenzellkarzinom	+++
Prostatakarzinom	nd

RT-PCR-Untersuchungen mit einem SLC13A1-spezifischen Primerpaar (SEQ ID NO: 49, 50) bestätigten eine nahezu selektive Expression in der Niere, und zeigten erfindungsgemäß eine hohe Expression in nahezu allen (7/8) untersuchten Nierenzellkarzinom-Biopsien (Tab. 4, Abb. 6). Auch quantitative RT-PCR mit spezifischen Primern (SEQ ID NO: 121, 122) bestätigen diese Daten (Abb. 34). Schwache Signale waren in folgenden Normalgeweben nachweisbar: Kolon, Magen, Testis, Mamma, Leber und Gehirn. Die Expression in Nierenkarzinomen war aber mindestens 100-fach höher als in allen anderen Normalgeweben.

Um die subzelluläre Lokalisation von SLC13A1 in der Zelle zu analysieren, wurde das Protein mit eGFP als Reportermolekül fusioniert und nach Transfektion des entsprechenden Plasmids heterolog in 293-Zellen exprimiert. Anschließend wurde die Lokalisation im Fluoreszenzmikroskop analysiert. Unsere Daten bestätigen nachdrücklich, dass SLC13A1 ein  
5 integrales Transmembranmolekül ist (Abb. 35).

Zum Nachweis des SLC13A1-Proteins wurden Antikörper durch Immunisieren von Kaninchen hergestellt. Zur Propagierung dieser Antikörper wurden die Peptide der SEQ ID NO: 123 und 124 genutzt. Solche Antikörper können prinzipiell für diagnostische wie auch therapeutische Zwecke genutzt werden.

10 Das SLC13A1-Protein hat 13 Transmembrandomänen und 7 extrazelluläre Regionen. Insbesondere diese extrazellulären Domänen von SLC13A1 können erfindungsgemäß als Zielstrukturen von monoklonalen Antikörpern genutzt werden. SLC13A1 ist als Kanalprotein an dem Transport von Ionen beteiligt. Die extrazellulären Domänen von SLC13A1 in der gesunden Niere sind polar in Richtung Harnwege (luminal) gerichtet. Therapeutisch  
15 eingesetzte hochmolekulare monoklonale Antikörper werden jedoch nicht in die Harnwege ausgeschieden, so dass keine Bindung an SLC13A1 in der gesunden Niere stattfindet. Dagegen ist die Polarität von SLC13A1 in Tumorzellen aufgehoben und das Protein direkt über den Blutkreislauf für Antikörpertargeting zugänglich. Die ausgeprägte Expression und hohe Inzidenz von SLC13A1 in Nierenzellkarzinomen machen dieses Protein  
20 erfindungsgemäß zu einem hochinteressanten diagnostischen und therapeutischen Marker. Dies umfasst erfindungsgemäß den Nachweis disseminierter Tumorzellen im Serum, Knochenmark, Urin, sowie die Detektion von Metastasen in anderen Organen mittels RT-PCR. Des weiteren können die extrazellulären Domänen von SLC13A1 erfindungsgemäß als Zielstruktur zur Immun-Diagnostik und Therapie mittels monoklonaler Antikörper verwendet  
25 werden. Des weiteren kann SLC13A1 erfindungsgemäß als Vakzine (RNA, DNA, Protein, Peptide) zur Induktion Tumor-spezifischer Immunantworten (T- und B-Zell vermittelte Immunreaktionen) eingesetzt werden. Dies umfasst erfindungsgemäß auch die Entwicklung von sogenannten „small compounds“, die die biologische Aktivität von SLC13A1 modulieren und zur Therapie von renalen Tumoren eingesetzt werden können.

### Beispiel 6: Identifizierung von CLCA1 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

CLCA1 (SEQ ID NO: 51; Translationsprodukt: SEQ ID NO: 60) gehört zur Familie der  $\text{Ca}^{++}$ -aktivierten  $\text{Cl}^-$ -Kanäle. Die Sequenz ist in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM\_001285 veröffentlicht. CLCA1 ist ausschließlich im intestinalen Kryptenepithel und in den Becherzellen exprimiert (Gruber et al., *Genomics* 54:200-14, 1998). Es wurde untersucht, ob CLCA1 als Marker für Kolon- und Magenkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 67, 68) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von CLCA1 ermöglichen. RT-PCR-Untersuchungen mit diesem Primer-Set bestätigten eine selektive Expression im Kolon, und zeigten erfindungsgemäß eine hohe Expression in (3/7) untersuchten Kolon- und (1/3) untersuchten Magenkarzinom-Proben (Abb. 7). Die übrigen Normalgewebe zeigten keine oder nur eine sehr schwache Expression. Dies wurde mit einer spezifischen quantitativen RT-PCR (SEQ ID NO: 125, 126) zusätzlich bestätigt, wobei in den analysierten Normalgeweben keine Expression nachgewiesen werden konnte (Abb. 36). Bei den in diesem Experiment untersuchten Tumorproben waren 6/12 Kolonkarzinomproben und 5/10 Magenkarzinomproben positiv für CLCA1. Insgesamt scheint die Expression des Genes in Tumoren dysreguliert zu sein. Neben sehr stark exprimierenden Proben war CLCA1 in anderen Proben deutlich herunterreguliert.

Für das Protein sind 4 Transmembrandomänen mit insgesamt 2 extrazellulären Regionen prädiziert. Insbesondere diese extrazellulären Domänen von CLCA1 können erfindungsgemäß als Zielstrukturen von monoklonalen Antikörpern genutzt werden.

Die ausgeprägte Expression und die hohe Inzidenz von CLCA1 für Magen- und Kolonkarzinome machen dieses Protein erfindungsgemäß zu einem interessanten diagnostischen und therapeutischen Marker. Dies umfasst erfindungsgemäß den Nachweis disseminierter Tumorzellen im Serum, Knochenmark, Urin, sowie die Detektion von Metastasen in anderen Organen mittels RT-PCR. Des weiteren können die extrazellulären Domänen von CLCA1 erfindungsgemäß als Zielstruktur zur Immun-Diagnostik und Therapie mittels monoklonaler Antikörper verwendet werden. Des weiteren kann CLCA1 erfindungsgemäß als Vakzine (RNA, DNA, Protein, Peptide) zur Induktion Tumor-spezifischer Immunantworten (T- und B-Zell vermittelte Immunreaktionen) eingesetzt werden. Dies umfasst erfindungsgemäß auch die Entwicklung von sogenannten „small compounds“, die die biologische Aktivität als Transportprotein von CLCA1 modulieren und zur Therapie von gastrointestinalen Tumoren eingesetzt werden können.

### Beispiel 7: Identifizierung von FLJ21477 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target

FLJ21477 (SEQ ID NO: 52) und sein prädictiertes Translationsprodukt (SEQ ID NO: 61) wurde als hypothetisches Protein in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM\_025153 veröffentlicht. Es handelt es sich um ein integrales Membranprotein mit ATPase-Aktivität und 4 Transmembrandomänen, das entsprechend für Therapie mit spezifischen Antikörpern geeignet ist. RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ21477-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 69, 70) zeigten eine selektive Expression im Kolon, und darüber hinaus unterschiedlich stark ausgeprägte Expression in (7/12) untersuchten Kolon-Karzinom-Proben (Abb. 8). Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression. Dies wurde mit einer spezifischen quantitativen RT-PCR (SEQ ID NO: 127, 128) zusätzlich bestätigt. Sowohl in Kolon (Abb. 37A) als auch in 11/12 Kolonkarzinomen war eine FLJ21477-spezifische Expression nachweisbar. Neben der Expression in Kolongewebe konnte zusätzlich eine Expression in Magengewebe nachgewiesen werden. Außerdem war unter den Bedingungen der quantitativen RT-PCR eine im Vergleich mit Kolon und Magen deutlich schwächere Expression in Gehirn, Thymus und Ösophagus nachweisbar (Abb. 37A). Zusätzlich konnte außerdem in den folgenden Tumورproben eine FLJ21477-spezifische Expression nachgewiesen werden: Magen, Pankreas, Ösophagus und Leber.

Für das Protein sind 4 Transmembrandomänen mit insgesamt 2 extrazellulären Regionen prädictiert. Insbesondere diese extrazellulären Domänen von FLJ21477 können erfindungsgemäß als Zielstrukturen von monoklonalen Antikörpern genutzt werden.

Die Expression und hohe Inzidenz von FLJ21477 für Magen- und Kolonkarzinome machen dieses Protein erfindungsgemäß zu einem wertvollen diagnostischen und therapeutischen Marker. Dies umfasst erfindungsgemäß den Nachweis disseminierter Tumorzellen im Serum, Knochenmark, Urin, sowie die Detektion von Metastasen in anderen Organen mittels RT-PCR. Des weiteren können die extrazellulären Domänen von FLJ21477 erfindungsgemäß als Zielstruktur zur Immun-Diagnostik und Therapie mittels monoklonaler Antikörper verwendet werden. Des weiteren kann FLJ21477 erfindungsgemäß als Vakzine (RNA, DNA, Protein, Peptide) zur Induktion Tumor-spezifischer Immunantworten (T- und B-Zell vermittelte Immunreaktionen) eingesetzt werden.



**Beispiel 8: Identifizierung von FLJ20694 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target**

- FLJ20694 (SEQ ID NO: 53) und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO: 62) wurden als hypothetisches Protein in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM\_017928 veröffentlicht. Bei diesem Protein handelt es sich um ein integrales Transmembrankomplex (Transmembrandomäne AS 33-54), höchstwahrscheinlich mit Thioredoxinfunktion. RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ20694-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 71, 72) zeigten eine selektive Expression im Kolon, und darüber hinaus unterschiedlich stark ausgeprägte Expression in (5/9) untersuchten Kolon-Karzinom-Proben (Abb. 9). Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression. Dies wurde mit einer spezifischen quantitativen RT-PCR (SEQ ID NO: 129, 130) zusätzlich bestätigt (Abb. 38). In keinem anderen Normalgewebe außer in Kolon und Magen (im ersten Experiment nicht analysiert) konnte eine FLJ20694 Expression nachgewiesen werden.
- Für das Protein ist eine Transmembrandomäne mit einer extrazellulären Region prädisponiert. Insbesondere diese extrazellulären Domänen von FLJ20694 können erfindungsgemäß als Zielstrukturen von monoklonalen Antikörpern genutzt werden.
- Des Weiteren kann FLJ20694 erfindungsgemäß als Vakzine (RNA, DNA, Protein, Peptide) zur Induktion Tumor-spezifischer Immunantworten (T- und B-Zell vermittelte Immunreaktionen) eingesetzt werden. Dies umfasst erfindungsgemäß auch die Entwicklung von sogenannten „small compounds“, die die biologische Aktivität von FLJ20694 modulieren und zur Therapie von gastrointestinalen Tumoren eingesetzt werden können.

**Beispiel 9: Identifizierung des von Ebner Proteins (c20orf114) als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target**

- Das von Ebner Protein (SEQ ID NO: 54) und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO: 63) wurden als Plunc-verwandtes Protein der oberen Luftwege und des Nasen-Rachen-Epithels in der Genbank unter der Zugangs-Nr. AF364078 veröffentlicht. Erfindungsgemäß wurde untersucht, ob das von Ebner Protein als Marker von Lungenkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 73, 74) verwendet, die eine spezifische Amplifikation des Ebner Proteins ermöglichen. RT-PCR-Untersuchungen mit diesem Primer-Set zeigten eine selektive Expression in der Lunge und in (5/10) untersuchten

Lungenkarzinom-Proben (Abb. 10). Innerhalb der Gruppe der Normalgewebe zeigte sich auch eine Expression im Magen. Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression.

#### **Beispiel 10: Identifizierung von Plunc als diagnostisches und therapeutisches Krebs-**

##### **5 Target**

Plunc (SEQ ID NO: 55) und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO: 64) wurden in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM\_016583 veröffentlicht. Das humane Plunc kodiert für ein Protein von 256 Aminosäuren und weist eine 72%ige Homologie mit dem murinen Plunc  
10 Protein auf (Bingle und Bingle, *Biochim Biophys Acta* 1493:363-7, 2000). Die Expression von Plunc beschränkt sich auf die Trachea, die oberen Luftwege, Nasen-Rachen-Epithel und Speicheldrüse.

Erfindungsgemäß wurde untersucht, ob Plunc als Marker von Lungenkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 75, 76) verwendet, die eine  
15 spezifische Amplifikation von Plunc ermöglichen.

RT-PCR-Untersuchungen mit diesem Primer-Set zeigten eine selektive Expression im Thymus, in der Lunge und in (6/10) untersuchten Lungenkarzinom-Proben (Abb. 11). Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression.

#### **20 Beispiel 11: Identifizierung von SLC26A9 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target**

SLC26A9 (SEQ ID NO: 56) und sein Translationsprodukt (SEQ ID NO: 65) wurden in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM\_134325 veröffentlicht. SLC26A9 gehört zur Familie der  
15 Anionen-Austauscher. Die Expression von SLC26A9 beschränkt sich auf das bronchioläre und alveoläre Epithel der Lunge (Lohi et al., *J Biol Chem* 277 :14246-54, 2002).

Es wurde untersucht, ob SLC26A9 als Marker von Lungenkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 77, 78) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von SLC26A9 ermöglichen. RT-PCR-Untersuchungen mit SLC26A9-  
0 spezifischen Primern (SEQ ID NO: 77, 78) zeigten eine selektive Expression in der Lunge und in allen (13/13) untersuchten Lungen-Karzinom-Proben (Abb. 12). Die übrigen Normalgewebe zeigten mit Ausnahme der Schilddrüse keine Expression. In quantitativen RT-PCR-Experimenten mit den Primern SEQ ID NO. 131 und 132 konnten diese Ergebnisse zum einen bestätigt sowie zusätzliche Erkenntnisse gewonnen werden. In gepoolten Proben von 4-

5 Tumorgewebe konnten hohe Expressionslevel für SLC26A9-spezifische RNA in Lungen-, Dickdarm-, Pankreas- und Magentumoren detektiert werden. SLC26A9 ist Mitglied einer Familie von Transmembran-Anionentransportern. In der gesunden Lunge ist das Protein in Richtung Luftwege luminal gerichtet und damit IgG-Antikörpern aus dem Blut nicht direkt zugänglich. Dagegen ist die Polarität des Proteins in Tumoren aufgehoben. Erfindungsgemäß kann daher das SLC26A9 in den definierten Tumoren u.a. Lungentumore, Magencarcinome, Pankreascarcinome als therapeutisches Target durch monoklonale Antikörper adressiert werden. Die ausgeprägte, hohe Expression und hohe Inzidenz von SLC26A9 für Lungen-, Magen-, Bauchspeicheldrüsen- und Speiseröhrencarcinome machen dieses Protein erfindungsgemäß zu einem exzellenten diagnostischen und therapeutischen Marker. Dies umfasst erfindungsgemäß den Nachweis disseminierter Tumorzellen im Serum, Knochenmark und Urin, sowie die Detektion von Metastasen in anderen Organen mittels RT-PCR. Des weiteren können die extrazellulären Domänen von SLC26A9 erfindungsgemäß als Zielstruktur zur Immun-Diagnostik und Therapie mittels monoklonaler Antikörper verwendet werden. Des weiteren kann SLC26A9 erfindungsgemäß als Vakzine (RNA, DNA, Protein, Peptide) zur Induktion Tumor-spezifischer Immunantworten (T- und B-Zell vermittelte Immunreaktionen) eingesetzt werden. Dies umfasst erfindungsgemäß auch die Entwicklung von sogenannten „small compounds“, die die biologische Aktivität von SLC26A9 modulieren und zur Therapie von Lungentumoren und gastrointestinalen Tumoren eingesetzt werden können.

#### **Beispiel 12: Identifizierung von THC1005163 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target**

THC1005163 (SEQ ID NO: 57) ist ein Genfragment aus dem TIGR-Gen Index. Das Gen ist nur im 3'-Bereich definiert, während ein ORF fehlt. RT-PCR-Untersuchungen erfolgten mit einem THC1005163-spezifischen Primer (SEQ ID NO: 79) und einem Oligo dT<sub>18</sub> Primer, der am 5'-Ende ein spezifisches Tag von 21 spezifischen Basen hatte. Dieses Tag wurde mit Datenbank-Suchprogrammen auf Homologie mit bekannten Sequenzen überprüft. Dieser spezielle Primer wurde initial bei der cDNA-Synthese eingesetzt, um genomische DNA-Verunreinigungen auszuschließen. RT-PCR-Untersuchungen mit diesem Primer-Set zeigten eine Expression in Magen, Ovar, Lunge und in (5/9) Lungenkarzinom-Biopsien (Abb. 13). Die übrigen Normalgewebe zeigten keine Expression.

**Beispiel 13: Identifizierung von LOC134288 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target**

LOC134288 (SEQ ID NO: 58) und sein prädictiertes Translationsprodukt (SEQ ID NO: 66) wurden in der Genbank unter der Zugangs-Nr. XM\_059703 veröffentlicht.

Erfindungsgemäß wurde untersucht, ob LOC134288 als Marker von Nierenzellkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 80, 81) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von LOC134288 ermöglichen. RT-PCR-Untersuchungen zeigten eine selektive Expression in der Niere und in (5/8) untersuchten Nierenzellkarzinom-Biopsien (Abb. 14).

**Beispiel 14: Identifizierung von THC943866 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target**

THC943866 (SEQ ID NO: 59) ist ein Genfragment aus dem TIGR-Gen Index. Es wurde untersucht, ob THC943866 als Marker von Nierenzellkarzinom genutzt werden kann. Hierzu wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 82, 83) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von THC943866 ermöglichen.

RT-PCR-Untersuchungen mit THC943866-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 82, 83) zeigten eine selektive Expression in der Niere und in (4/8) untersuchten Nierenzellkarzinom-Biopsien (Abb. 15).

**Beispiel 15: Identifizierung von FLJ21458 als diagnostisches und therapeutisches Krebs-Target**

FLJ21458 (SEQ ID NO: 84) und sein prädictiertes Translationsprodukt (SEQ ID NO: 85) wurden in der Genbank unter der Zugangs-Nr. NM\_034850 veröffentlicht. Sequenzanalysen ergaben, dass das Protein ein neues Mitglied der Butyrophillin-Familie darstellt. Strukturanalysen ergaben, dass es ein Typ-1-Transmembranprotein mit einer extrazellulären Immunglobulindomäne darstellt. Zur Expressionsuntersuchung wurden Oligonukleotide (SEQ ID NO: 86, 87) verwendet, die eine spezifische Amplifikation von FLJ21458 ermöglichen. RT-PCR-Untersuchungen mit FLJ21458-spezifischen Primern (SEQ ID NO: 86, 87) zeigten eine selektive Expression im Kolon und in (7/10) untersuchten Kolonkarzinom-Biopsien (Abb. 16, Tab. 5). Eine quantitative RT-PCR mit spezifischen Primern (SEQ ID NO: 133,

134) bestätigte dieses selektive Expressionsprofil (Abb. 39). Darüberhinaus konnte in dem Experiment FLJ21458 gastrointestinal-spezifisch im Kolon, sowie in Magen, im End- und Blinddarm und in Testis nachgewiesen werden. Auch 7/11 Kolonmetastaseproben waren in der quantitativen PCR positiv. Die FLJ21458-spezifische Expression wurde auf andere Tumoren erweitert und eine proteinspezifische Expression konnte in Magen-, Pankreas- und Lebertumoren nachgewiesen werden (Tab. 5). Zum Nachweis von FLJ21458 Protein wurden Antikörper durch Immunisieren von Kaninchen hergestellt. Folgende Peptide wurden zur Propagierung dieser Antikörper genutzt:

SEQ ID NO:135: QWQVFGPDKPVQAL

10 SEQ ID NO:136: AKWKGPQGQDLSTDS

Eine FLJ21458-spezifische Reaktion konnte in der Immunfluoreszenz nachgewiesen werden (Abb. 40). Zur Spezifitätskontrolle der Antikörper wurden 293-Zellen mit einem Plasmid transfiziert, dass für ein FLJ21458-GFP-Fusionsprotein kodiert. Der Spezifitätsnachweis erfolgte zum einen durch Kolokalisationsuntersuchungen mit dem FLJ21458-spezifischen Antikörper, zum anderen über das autofluoreszierende GFP. Eine Überlagerung beider Fluoreszenzbilder zeigte eindeutig, dass das Immunserum spezifisch FLJ21458-Protein erkennt (Abb. 40A). Bedingt durch die Überexpression des Proteins ergab sich eine diffuse Zellfärbung, die keine eindeutige Proteinlokalisierung zuließ. Aus diesem Grund wurde mit der magentumorspezifischen Zelllinie Snu16, die FLJ21458 endogen exprimiert, ein weiteres Immunfluoreszenzexperiment durchgeführt (Abb. 41B). Die Zellen wurden mit dem FLJ21458-spezifischen Antiserum sowie mit einem weiteren Antikörper angefärbt, der das Membranprotein E-Cadherin erkennt. Der FLJ21458-spezifische Antikörper färbt zumindest schwach die Zellmembranen an und ist somit ein Beleg dafür, dass FLJ21458 in der Zellmembranprotein lokalisiert ist.

25 Bioinformatische Untersuchungen zeigten, dass das von FLJ21458 kodierte Protein ein Zelloberflächenmolekül darstellt und über eine Immunglobulinsupermolekül-Domäne verfügt. Die selektive Expression dieses Oberflächenmoleküls macht es zu einem guten Target für die Entwicklung von diagnostischen Verfahren zur Detektion von Tumorzellen und therapeutischen Verfahren zur Elimination von Tumorzellen.

30 Die ausgeprägte Expression und hohe Inzidenz von FLJ21458 für Magen- und Kolonkarzinome machen dieses Protein erfindungsgemäß zu einem hochinteressanten diagnostischen und therapeutischen Marker. Dies umfasst erfindungsgemäß den Nachweis disseminierter Tumorzellen im Serum, Knochenmark und Urin, sowie die Detektion von

- Metastasen in anderen Organen mittels RT-PCR. Des weiteren können die extrazellulären Domänen von FLJ21458 erfindungsgemäß als Zielstruktur zur Immun-Diagnostik und Therapie mittels monoklonaler Antikörper verwendet werden. Des weiteren kann FLJ21458 erfindungsgemäß als Vakzine (RNA, DNA, Protein, Peptide) zur Induktion Tumor-spezifischer
- 5 Immunantworten (T-und B-Zell vermittelte Immunreaktionen) eingesetzt werden. Dies umfasst erfindungsgemäß auch die Entwicklung von sogenannten „small compounds“, die die biologische Aktivität von FLJ21458 modulieren und zur Therapie von gastrointestinalen Tumoren eingesetzt werden können.

Tab. 5 FLJ21458-Expression in Normal- und Tumorgewebe

Normalgewebe	Expression
Gehirn	-
Cerebellum (Kleinhirn)	-
Myokard	nd
Skelettmuskel	-
Herzmuskel	-
Magen	++
Colon (Dickdarm)	+++
Pankreas	-
Niere	-
Leber	-
Testis (Hoden)	++
Thymus	nd
Mamma (Brust)	nd
Ovar	-
Uterus	-
Haut	-
Lunge	-
Thyroid (Schilddrüse)	nd
Lymphknoten	-
Milz	-
PBMC	-
Nebenniere	nd
Ösophagus	-
Dünndarm	-
Prostata	-

Tumortyp	Expression
Kolonkarzinom	7/10
Pankreaskarzinom	5/6
Ösophaguskarzinom	nd
Magenkarzinom	8/10
Bronchialkarzinom	nd
Mammakarzinom	nd
Ovarialkarzinom	nd
Endometriumkarzinom	nd
HNO-Tumoren	nd
Nierenzellkarzinom	nd
Prostatakarzinom	nd
Kolonmetastasen	7/11
Leberkarzinom	5/8

Patentansprüche

1. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend ein Mittel, das die Expression oder Aktivität eines Tumor-assoziierten Antigens hemmt, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:
- 5 (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,
- 10 (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,
- (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und
- (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.
- 15 2. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend ein Mittel mit tumorhemmender Aktivität, das selektiv ist für Zellen, die eine Expression oder abnormale Expression eines tumorassoziierten Antigens aufweisen, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus
- 20 (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,
- (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,
- 25 (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und
- (d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.
- 30 3. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 2, wobei das Mittel die Induktion des Zelltods, die Reduktion des Zellwachstums, eine Schädigung der Zellmembran oder eine Sekretion von Zytokinen bewirkt.



4. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Mittel eine Antisense-Nukleinsäure ist, die selektiv mit der Nukleinsäure hybridisiert, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert.

5. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Mittel ein Antikörper ist, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet.

6. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 2, wobei das Mittel ein komplementaktivierender Antikörper ist, der selektiv an das Tumor-assoziierte Antigen bindet.

7. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend ein Mittel, das bei einer Verabreichung selektiv die Menge an Komplexen zwischen einem HLA-Molekül und einem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon erhöht, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

8. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 7, wobei das Mittel einen oder mehrere Bestandteile umfasst, die aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus:

(i) dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon,

(ii) einer Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon kodiert,

(iii) einer Wirtszelle, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimiert, und

(iv) isolierten Komplexen zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem HLA-Molekül.

9. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, 2 oder 7, wobei das Mittel mehrere Mittel umfasst, die jeweils selektiv die Expression oder Aktivität verschiedener Tumor-assoziierten Antigene hemmen, jeweils selektiv für Zellen sind, die verschiedene Tumor-assoziierte Antigene exprimieren oder die Menge an Komplexen zwischen HLA-Molekülen und verschiedenen Tumor-assoziierten Antigenen oder Teilen davon erhöhen, wobei mindestens eines der Tumor-assoziierten Antigene eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

10. Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend einen oder mehrer Bestandteile, die aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus:

(i) einem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon,

(ii) einer Nukleinsäure, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon kodiert,

(iii) einem Antikörper, der an ein Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon bindet,

(iv) einer Antisense-Nukleinsäure, die spezifisch mit einer Nukleinsäure, die für ein Tumor-assoziiertes Antigen kodiert, hybridisiert,

(v) einer Wirtszelle, die ein Tumor-assoziiertes Antigen oder einen Teil davon exprimiert, und

(vi) isolierten Komplexen zwischen einem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem HLA-Molekül,

wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

- (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und  
(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

- 5 11. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8 oder 10, wobei die Nukleinsäure unter (ii) in einem Expressionsvektor vorliegt.
12. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8 oder 10, wobei die Nukleinsäure unter (ii) funktionell mit einem Promotor verbunden ist.
- 10 13. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8 oder 10, wobei die Wirtszelle das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon sekretiert.
14. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8 oder 10, wobei die Wirtszelle  
15 zusätzlich ein HLA-Molekül exprimiert, das an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon bindet.
15. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 14, wobei die Wirtszelle das HLA-Molekül und/oder das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon rekombinant  
20 exprimiert.
16. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 14, wobei die Wirtszelle das HLA-Molekül endogen exprimiert.
- 25 17. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8, 10, 14 oder 16, wobei die Wirtszelle eine Antigen-präsentierende Zelle ist.
18. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 17, wobei die Antigen-präsentierende Zelle eine dendritische Zelle oder ein Makrophage ist.
- 30 19. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 8, 10 und 13-18, wobei die Wirtszelle nicht-proliferativ ist.

20. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5 oder 10, wobei der Antikörper ein monoklonaler Antikörper ist.
21. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5 oder 10, wobei der Antikörper  
5 ein chimärer oder humanisierter Antikörper ist.
22. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5 oder 10, wobei der Antikörper ein Fragment eines natürlichen Antikörpers ist.
- 10 23. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5 oder 10, wobei der Antikörper mit einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel gekoppelt ist.
24. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 4 oder 10, wobei die Antisense-Nukleinsäure eine Sequenz von 6-50 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure,  
15 die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, umfasst.
25. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 8 und 10-13, wobei das durch die pharmazeutische Zusammensetzung bereitgestellte Tumor-assoziierte Antigen oder der Teil davon an MHC-Moleküle auf der Oberfläche von Zellen bindet, die eine  
20 abnormale Menge des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon exprimieren.
26. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 25, wobei die Bindung eine cytolytische Reaktion hervorruft und/ oder eine Cytokinausschüttung induziert
- 25 27. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-26, ferner umfassend einen pharmazeutisch verträglichen Träger und/oder ein Adjuvans.
28. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 27, wobei das Adjuvans Saponin, GM-CSF, CpG, Zytokin oder ein Chemokin ist.
- 30 29. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-28, die zur Behandlung einer Erkrankung eingesetzt werden kann, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet.

30. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 29, wobei die Erkrankung Krebs ist.

5 31. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 29, wobei die Erkrankung ein Lungentumor, ein Brusttumor, ein Prostatatumor, ein Melanom, ein Kolontumor, ein Magentumor, ein Pankreastumor, ein HNO-Tumor, Nierenzellkarzinom oder ein Zervixkarzinom, ein Kolonkarzinom oder ein Mammakarzinom ist.

10 32. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-31, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Aminosäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 9-19, 45-48, 60-66, 85, 90-97, 100-102, 105, 106, 111-116, 118, 120, 123, 124 und 135-137, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist.

15 33. Verfahren zur Diagnose einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend

(i) den Nachweis einer Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teils davon, und/oder

(ii) den Nachweis des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon, und/oder

20 (iii) den Nachweis eines Antikörpers gegen das Tumor-assoziierte Antigen oder eines Teils davon und/oder

(iv) den Nachweis von cytotoxischen oder Helfer-T-Lymphozyten, die für das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon spezifisch sind in einer aus einem Patienten isolierten biologischen Probe, wobei

25 das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

30 (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

34. Verfahren nach Anspruch 33, wobei der Nachweis

(i) die Kontaktierung der biologischen Probe mit einem Mittel, das spezifisch an die Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder den Teil davon, an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon, an den Antikörper oder an die cytotoxischen oder Helfer-T-Lymphozyten bindet, und

(ii) den Nachweis der Komplexbildung zwischen dem Mittel und der Nukleinsäure oder dem Teil davon, dem Tumor-assoziierten Antigen oder dem Teil davon, dem Antikörper oder den cytotoxischen oder Helfer-T-Lymphozyten umfasst.

35. Verfahren nach Anspruch 33 oder 34, wobei der Nachweis mit dem Nachweis in einer vergleichbaren normalen biologischen Probe verglichen wird.

36. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-35, wobei sich die Erkrankung durch die Expression oder abnormale Expression mehrerer verschiedener Tumor-assoziiierter Antigene auszeichnet und der Nachweis einen Nachweis mehrerer Nukleinsäuren, die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene kodieren, oder von Teilen davon, den Nachweis der mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder von Teilen davon, den Nachweis mehrerer Antikörper, die an die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder an Teile davon binden, oder den Nachweis mehrerer cytotoxischer oder Helfer-T-Lymphozyten, die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene spezifisch sind, umfasst.

37. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-36, wobei der Nachweis der Nukleinsäure oder des Teils davon mit einer Polynukleotid-Sonde erfolgt, die spezifisch mit der Nukleinsäure oder dem Teil davon hybridisiert.

38. Verfahren nach Anspruch 37, wobei die Polynukleotid-Sonde eine Sequenz von 6-50 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, umfasst.

39. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-36, wobei der Nachweis der Nukleinsäure oder des Teils davon durch selektive Amplifikation der Nukleinsäure oder des Teils davon erfolgt.

40. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-36, wobei das nachzuweisende Tumor-assoziierte Antigen oder der Teil davon in einem Komplex mit einem MHC-Molekül vorliegt.

41. Verfahren nach Anspruch 40, wobei das MHC-Molekül ein HLA-Molekül ist.

5

42. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-36 und 40-41, wobei der Nachweis des Tumor-assoziierten Antigens oder des Teils davon mit einem Antikörper erfolgt, der spezifisch an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon bindet.

10 43. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-36, wobei der Nachweis des Antikörpers mit einem Protein oder Peptid erfolgt, das spezifisch an den Antikörper bindet.

44. Verfahren zur Bestimmung der Regression, des Verlaufs oder des Ausbruchs einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend die Überwachung einer Probe aus einem Patienten, der die Erkrankung aufweist oder in Verdacht steht, an der Erkrankung zu erkranken in Bezug auf einen oder mehrere Parameter, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus:

15 (i) der Menge der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teil davon,

20 (ii) der Menge des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon,

(iii) der Menge an Antikörpern, die an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon binden, und

25 (iv) der Menge an cytolytischen oder Cytokin-ausschüttenden T-Zellen, die für einen Komplex zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem MHC-Molekül spezifisch sind, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

30 (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

45. Verfahren nach Anspruch 44, wobei das Verfahren die Bestimmung des oder der Parameter zu einem ersten Zeitpunkt in einer ersten Probe und zu einem zweiten Zeitpunkt in einer weiteren Probe umfasst und durch einen Vergleich der beiden Proben der Verlauf der Erkrankung ermittelt wird.

46. Verfahren nach Anspruch 44 oder 45, wobei die Erkrankung sich durch die Expression oder abnormale Expression mehrerer verschiedener Tumor-assoziierten Antigene auszeichnet und die Überwachung eine Überwachung

(i) der Menge mehrerer Nukleinsäuren, die für die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene kodieren, oder von Teilen davon,

(ii) der Menge der mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder von Teilen davon,

(iii) der Menge mehrerer Antikörper, die an die mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigene oder an Teile davon binden, und/oder

(iv) der Menge mehrerer cytolytischer oder Cytokine-ausschüttender T-Zellen, die für Komplexe zwischen den mehreren verschiedenen Tumor-assoziierten Antigenen oder von Teilen davon und MHC-Molekülen spezifisch sind, umfasst.

47. Verfahren nach einem der Ansprüche 44-46, wobei die Überwachung der Menge der Nukleinsäure oder des Teils davon mit einer Polynukleotid-Sonde erfolgt, die spezifisch mit der Nukleinsäure oder dem Teil davon hybridisiert.

48. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Polynukleotid-Sonde eine Sequenz von 6-50 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, umfasst.

49. Verfahren nach einem der Ansprüche 44-46, wobei die Überwachung der Menge der Nukleinsäure oder des Teils davon durch selektive Amplifikation der Nukleinsäure oder des Teils davon erfolgt.



50. Verfahren nach einem der Ansprüche 44-46, wobei die Überwachung der Menge des Tumor-assoziierten Antigens oder des Teils davon mit einem Antikörper erfolgt, der spezifisch an das Tumor-assoziierte Antigen oder den Teil davon bindet.

5 51. Verfahren nach einem der Ansprüche 44-46, wobei die Überwachung der Menge an Antikörpern mit einem Protein oder Peptid erfolgt, das spezifisch an den Antikörper bindet.

52. Verfahren nach einem der Ansprüche 44-46, wobei die Überwachung der Menge an cytolytischen oder Cytokin-ausschüttenden T-Zellen mit einer Zelle erfolgt, die den Komplex  
10 zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen oder dem Teil davon und einem MHC-Molekül präsentiert.

53. Verfahren nach einem der Ansprüche 37-38, 42-43, 47-48 und 50-52, wobei die Polynukleotid-Sonde, der Antikörper, das Protein oder Peptid oder die Zelle nachweisbar  
15 markiert sind.

54. Verfahren nach Anspruch 53, wobei der nachweisbare Marker ein radioaktiver Marker oder ein Enzymmarker ist.

20 55. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-54, wobei die Probe Körperflüssigkeit und/oder Körpergewebe umfasst.

56. Verfahren zur Behandlung einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend die  
25 Verabreichung einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-32, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon  
30 ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist  
und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

57. Verfahren zur Behandlung, Diagnose oder Überwachung einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend die Verabreichung eines Antikörpers, der an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon bindet und mit einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel gekoppelt ist, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

58. Verfahren nach Anspruch 42, 50 oder 57, wobei der Antikörper ein monoklonaler Antikörper ist.

59. Verfahren nach Anspruch 42, 50 oder 57, wobei der Antikörper ein chimärer oder humanisierter Antikörper ist.

60. Verfahren nach Anspruch 42, 50 oder 57, wobei der Antikörper ein Fragment eines natürlichen Antikörpers ist.

61. Verfahren zur Behandlung eines Patienten mit einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend:

- (i) die Entfernung einer Probe mit immunreaktiver Zellen aus dem Patienten,
- (ii) die Kontaktierung der Probe mit einer Wirtszelle, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimiert, unter Bedingungen, die eine Produktion cytolytischer oder Cytokine-ausschüttender T-Zellen gegen das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon begünstigen, und

(iii) das Einbringen der cytolytischen oder Cytokine-ausschüttenden T-Zellen in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, Zellen zu lysieren, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimieren, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

5 (a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

10 (c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

62. Verfahren nach Anspruch 61, wobei die Wirtszelle ein HLA-Molekül rekombinant  
15 exprimiert, das an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon bindet.

63. Verfahren nach Anspruch 62, wobei die Wirtszelle ein HLA-Molekül endogen exprimiert, das an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon bindet.

20 64. Verfahren zur Behandlung eines Patienten mit einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend:

(i) die Identifizierung einer Nukleinsäure, die von Zellen exprimiert wird, die mit der Erkrankung assoziiert sind, wobei die Nukleinsäure aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend  
25 aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

30 (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist,

(ii) die Transfektion einer Wirtszelle mit der Nukleinsäure oder einem Teil davon,

(iii) die Kultivierung der transfizierten Wirtszelle für eine Expression der Nukleinsäure, und  
(iv) das Einbringen der Wirtszellen oder eines Extrakts davon in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, die Immunreaktion gegen die Zellen des Patienten, die mit der Erkrankung assoziiert sind, zu erhöhen.

5

65. Verfahren nach Anspruch 64, ferner umfassend die Identifizierung eines MHC-Moleküls, das das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon präsentiert, wobei die Wirtszelle das identifizierte MHC-Molekül exprimiert und das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon präsentiert.

10

66. Verfahren nach Anspruch 64 oder 65, wobei die Immunreaktion eine B-Zellen-Reaktion oder eine T-Zellen-Reaktion umfasst.

15

67. Verfahren nach Anspruch 66, wobei die Immunreaktion eine T-Zellen-Reaktion ist, umfassend die Produktion cytolytischer oder Cytokine-ausschüttenden T-Zellen, die spezifisch für die Wirtszellen sind, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon präsentieren oder spezifisch für Zellen des Patienten sind, die das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon exprimieren.

20

68. Verfahren nach einem der Ansprüche 61-67, wobei die Wirtszellen nicht-proliferativ sind.

25

69. Verfahren zur Behandlung einer Erkrankung, die sich durch die Expression oder abnormale Expression eines Tumor-assoziierten Antigens auszeichnet, umfassend:

(i) die Identifikation von Zellen aus dem Patienten, die abnormale Mengen des Tumor-assoziierten Antigens exprimieren,

(ii) die Isolierung einer Probe der Zellen,

(iii) die Kultivierung der Zellen, und

30

(iv) das Einbringen der Zellen in den Patienten in einer Menge, die geeignet ist, eine Immunreaktion gegen die Zellen auszulösen, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

70. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-69, wobei die Erkrankung Krebs ist.

71. Verfahren zur Hemmung der Entwicklung von Krebs bei einem Patienten, umfassend die Verabreichung einer wirksamen Menge einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-32.

72. Verfahren nach einem der Ansprüche 33-71, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Aminosäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 9-19, 45-48, 60-66, 85, 90-97, 100-102, 105, 106, 111-116, 118, 120, 123, 124 und 135-137, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist.

73. Nukleinsäure, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 3-5, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

74. Nukleinsäure, die für ein Protein oder Polypeptid kodiert, das eine Aminosäuresequenz umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 10 und 12-14, einem Teil oder Derivat davon.

75. Rekombinantes DNA- oder RNA-Molekül, das eine Nukleinsäure nach Anspruch 73 oder 74 umfasst.

76. Rekombinantes DNA-Molekül nach Anspruch 75, wobei das rekombinante DNA-Molekül ein Vektor ist.

77. Rekombinantes DNA-Molekül nach Anspruch 76, wobei der Vektor ein viraler Vektor oder ein Bakteriophage ist.

78. Rekombinantes DNA-Molekül nach einem der Ansprüche 75-77, das ferner Expressionskontrollsequenzen umfasst, die die Expression der Nukleinsäure steuern.

79. Rekombinantes DNA-Molekül nach Anspruch 78, wobei die Expressionskontrollsequenzen homo- oder heterolog zu der Nukleinsäure sind.

80. Wirtszelle, die eine Nukleinsäure nach Anspruch 73 oder 74 oder ein rekombinantes DNA-Molekül nach einem der Ansprüche 75-79 umfasst.

81. Wirtszelle nach Anspruch 80, die ferner eine Nukleinsäure umfasst, die für ein HLA-Molekül kodiert.

82. Protein oder Polypeptid, das von einer Nukleinsäure nach Anspruch 73 kodiert wird.

83. Protein oder Polypeptid, das eine Aminosäuresequenz umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 10 und 12-14, einem Teil oder Derivat davon.

84. Immunogenes Fragment des Proteins oder Polypeptids nach Anspruch 82 oder 83.

85. Fragment des Proteins oder Polypeptids nach Anspruch 82 oder 83, das an menschlichen HLA-Rezeptor oder menschlichen Antikörper bindet.

86. Mittel, das spezifisch an ein Protein oder Polypeptid oder an einen Teil davon bindet, wobei das Protein oder Polypeptid von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

5 (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

10 87. Mittel nach Anspruch 86, wobei das Protein oder Polypeptid eine Aminosäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus SEQ ID NOs: 9-19, 45-48, 60-66, 85, 90-97, 100-102, 105, 106, 111-116, 118, 120, 123, 124 und 135-137, einem Teil oder Derivat davon.

15 88. Mittel nach Anspruch 86 oder 87, wobei das Mittel ein Antikörper ist.

89. Mittel nach Anspruch 88, wobei der Antikörper ein monoklonaler, chimärer oder humanisierter Antikörper oder ein Fragment eines Antikörpers ist.

20 90. Antikörper, der selektiv an einen Komplex aus:

(i) einem Protein oder Polypeptid oder einem Teil davon und

(ii) einem MHC-Molekül bindet, an das das Protein oder Polypeptid oder der Teil davon bindet, wobei der Antikörper nicht alleine an (i) oder (ii) bindet und das Protein oder Polypeptid von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend  
25 aus:

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

30 (b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.

91. Antikörper nach Anspruch 90, wobei das Protein oder Polypeptid eine Aminosäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus SEQ ID NOs: 9-19, 45-48, 60-66, 85, 90-97, 100-102, 105, 106, 111-116, 118, 120, 123, 124 und 135-137, einem Teil oder Derivat davon.

5

92. Antikörper nach Anspruch 90 oder 91, wobei der Antikörper ein monoklonaler, chimärer oder humanisierter Antikörper oder ein Fragment eines Antikörpers ist.

10 93. Konjugat zwischen einem Mittel nach einem der Ansprüche 86-89 oder einem Antikörper nach einem der Ansprüche 90-92 und einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel.

94. Konjugat nach Anspruch 93, wobei das therapeutische oder diagnostische Mittel ein Toxin ist.

15

95. Kit zum Nachweis der Expression oder abnormalen Expression eines Tumor-assoziierten Antigens, umfassend Mittel zum Nachweis

(i) der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teils davon,

(ii) des Tumor-assoziierten Antigens oder eines Teils davon,

20 (iii) von Antikörpern, die an das Tumor-assoziierte Antigen oder einen Teil davon binden, und/oder

(iv) von T-Zellen, die für einen Komplex zwischen dem Tumor-assoziierten Antigen oder einem Teil davon und einem MHC-Molekül spezifisch sind, wobei das Tumor-assoziierte Antigen eine Sequenz aufweist, die von einer Nukleinsäure kodiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

25

(a) einer Nukleinsäure, die eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119, einem Teil oder Derivat davon ausgewählt ist,

(b) einer Nukleinsäure, die unter stringenten Bedingungen mit der Nukleinsäure unter (a) hybridisiert,

30

(c) einer Nukleinsäure, die in Bezug auf die Nukleinsäure unter (a) oder (b) degeneriert ist und

(d) einer Nukleinsäure, die zu der Nukleinsäure unter (a), (b) oder (c) komplementär ist.



96. Kit nach Anspruch 95, wobei die Mittel zum Nachweis der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, oder eines Teils davon Nukleinsäuremoleküle für die selektive Amplifikation der Nukleinsäure sind.

5 97. Kit nach Anspruch 96, wobei die Nukleinsäuremoleküle für die selektive Amplifikation der Nukleinsäure eine Sequenz von 6-50 zusammenhängenden Nukleotiden aus der Nukleinsäure, die für das Tumor-assoziierte Antigen kodiert, umfassen.

98. Rekombinantes DNA-Molekül, umfassend eine Promotorregion, die von einer  
10 Nukleinsäuresequenz abgeleitet ist, die aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NOs: 1-8, 41-44, 51-59, 84, 117 und 119 ausgewählt ist.

Abb. 1

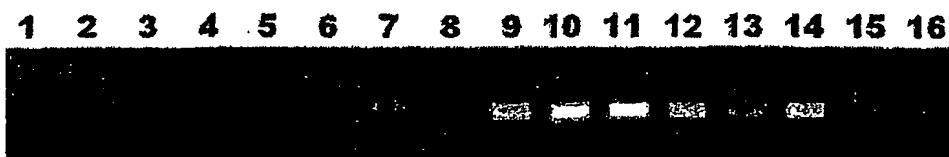


Abb. 2

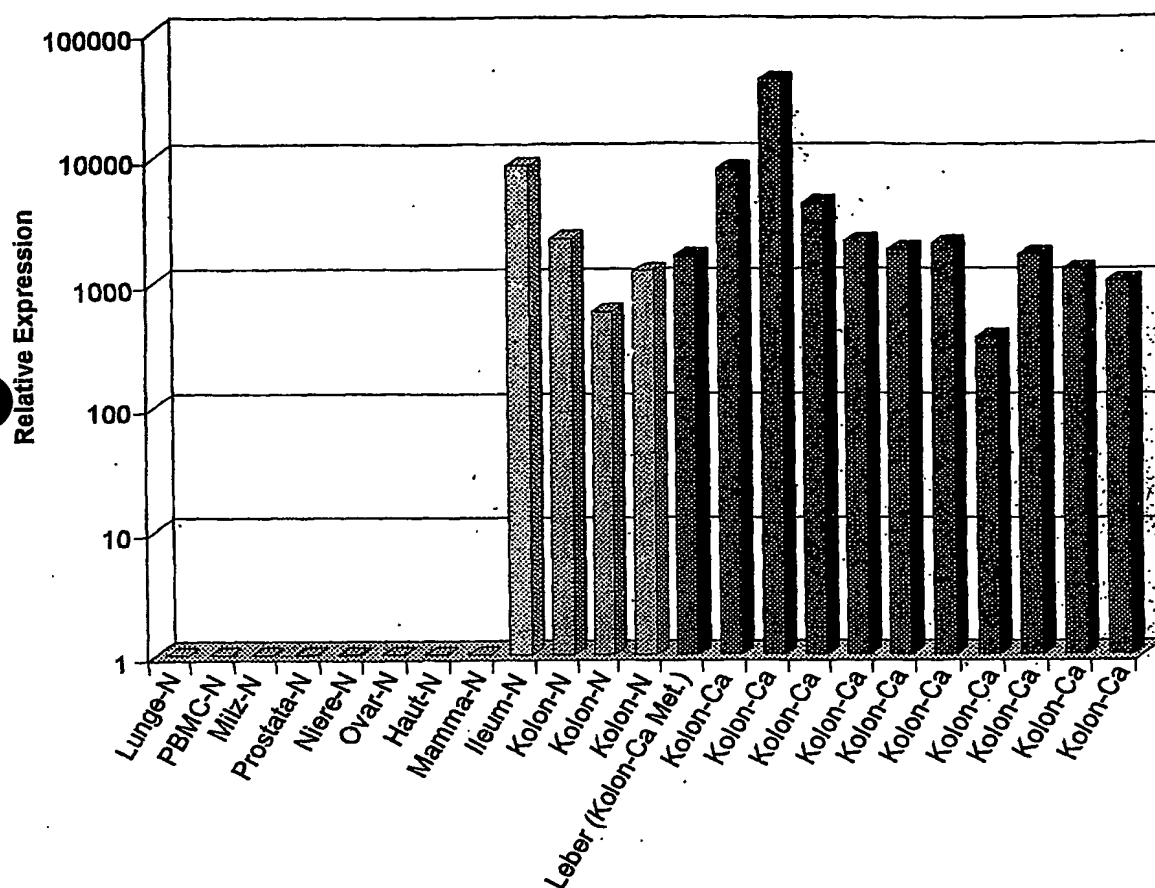


Abb. 3

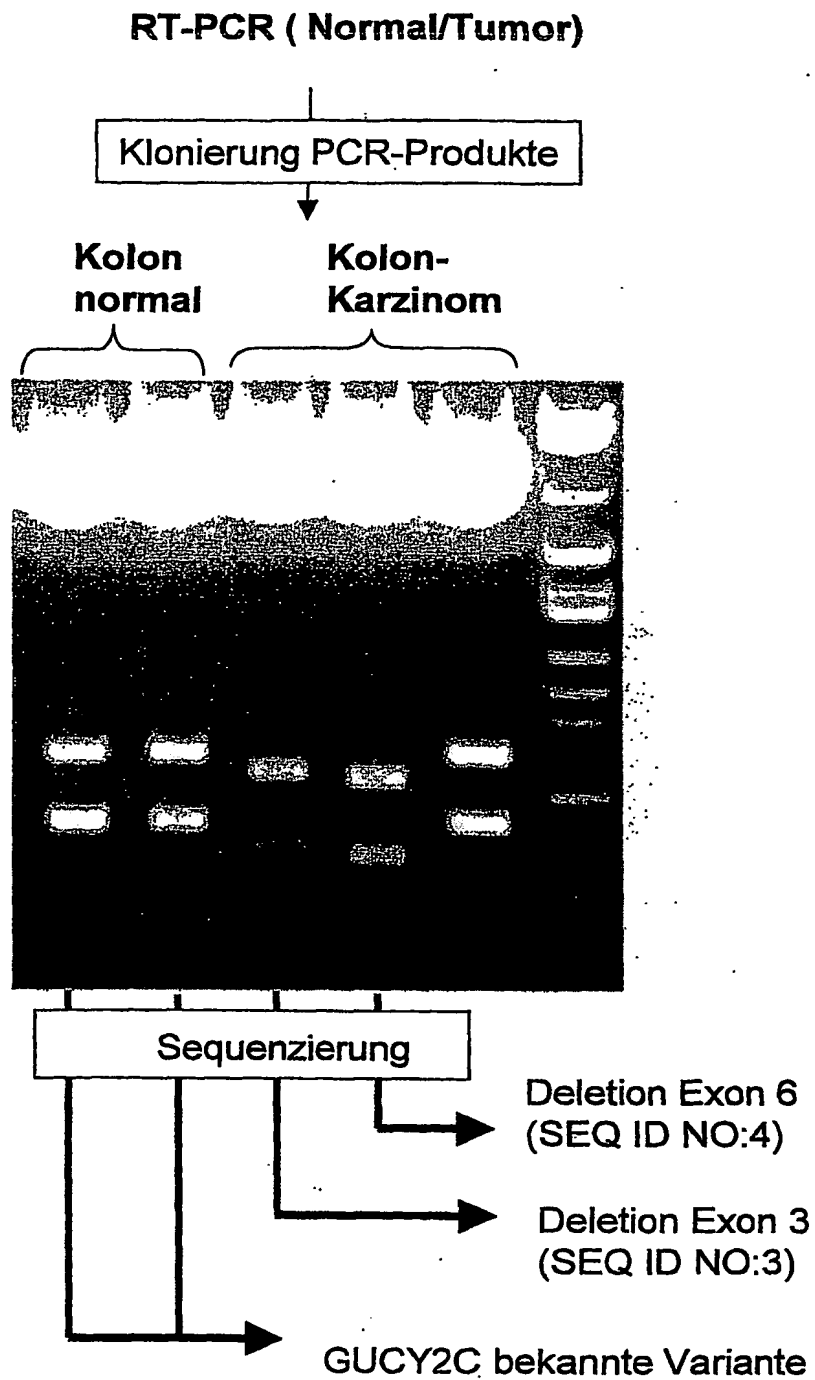


Abb. 4

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25



Abb. 5

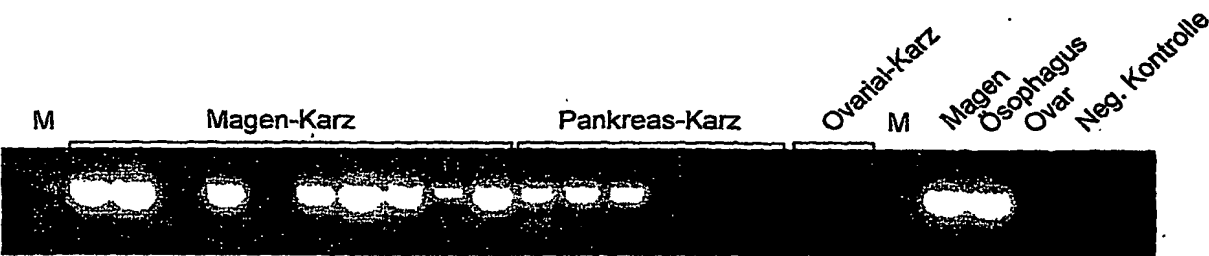


Abb. 6

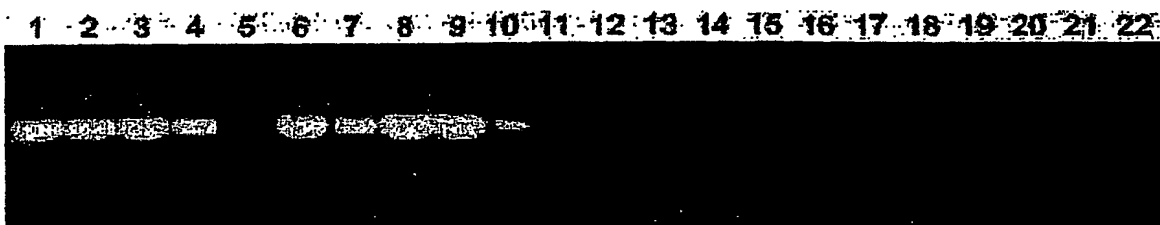


Abb. 7

Kolon-Karz.

Magen-Karz.

NG

Kolon





Abb. 8

NG

|Kolon|

Kolonkarzinom



Abb. 9

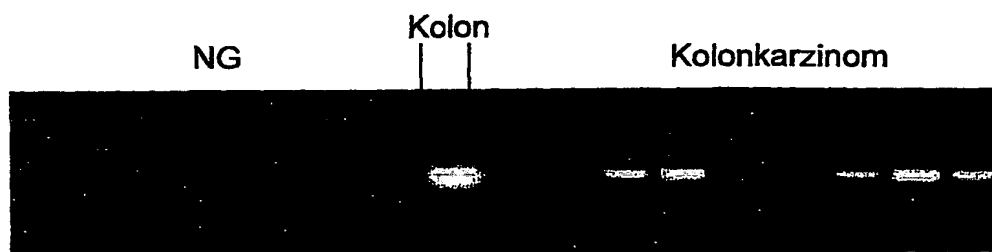


Abb. 10

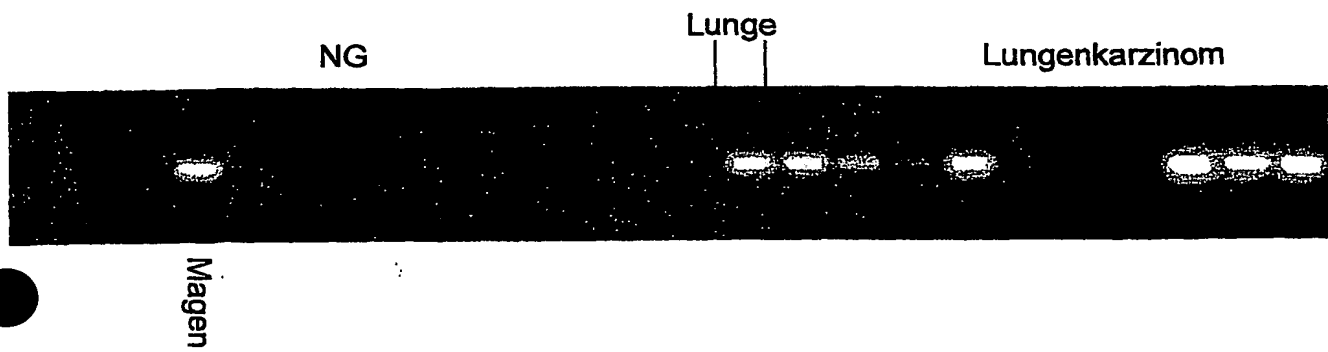


Abb. 11

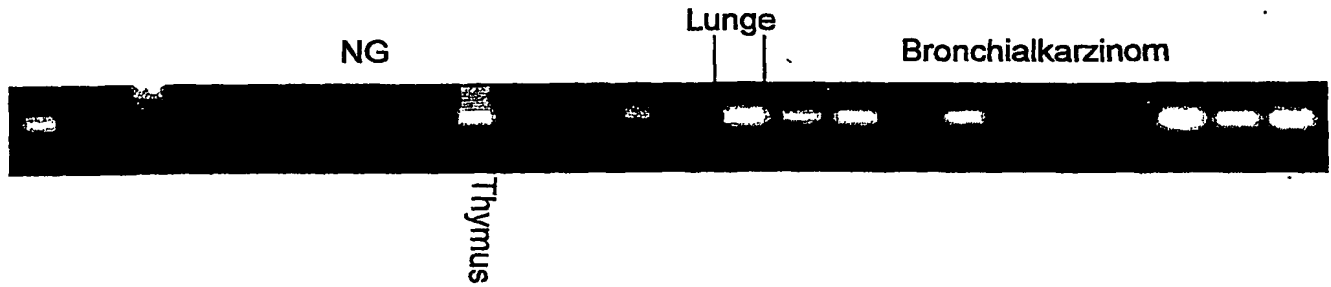


Abb. 12

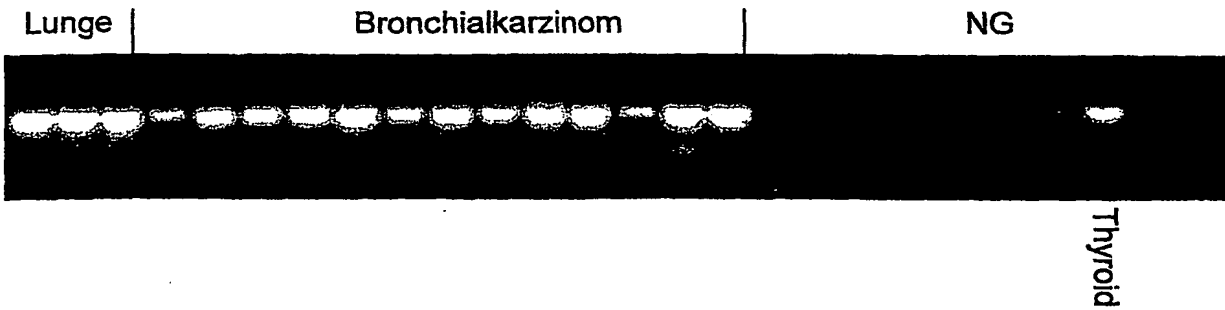
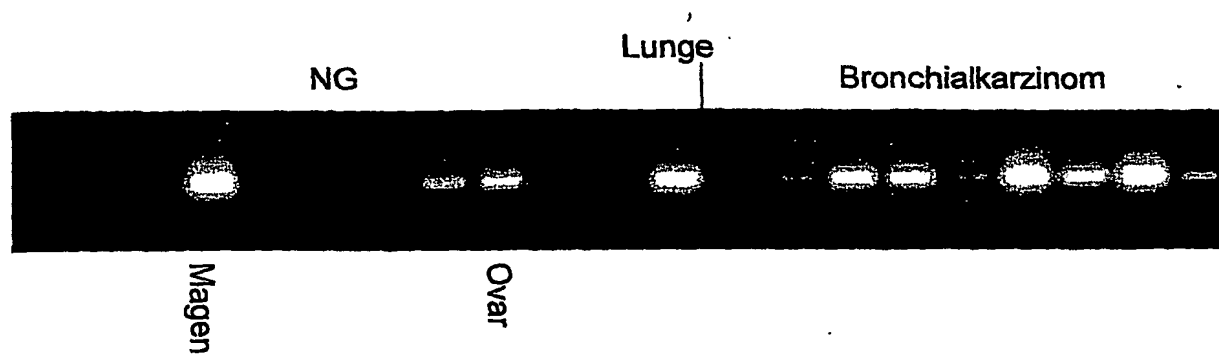


Abb. 13



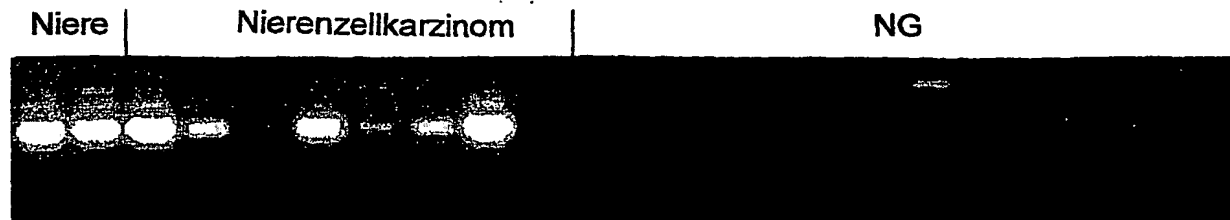


Abb. 15

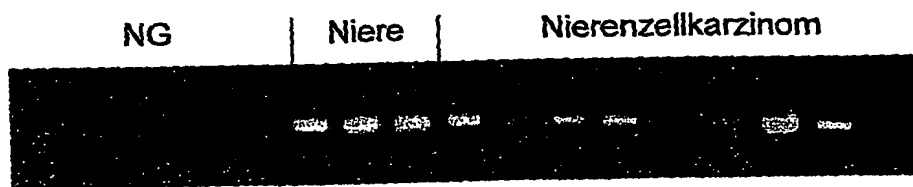
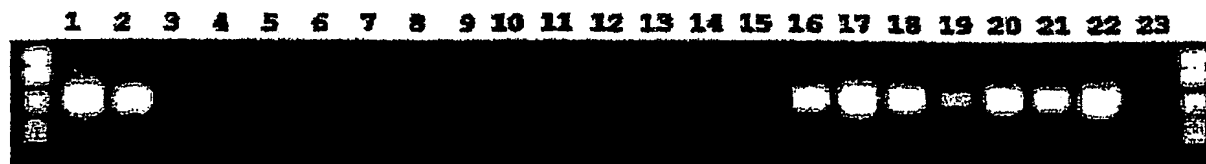




Abb. 16



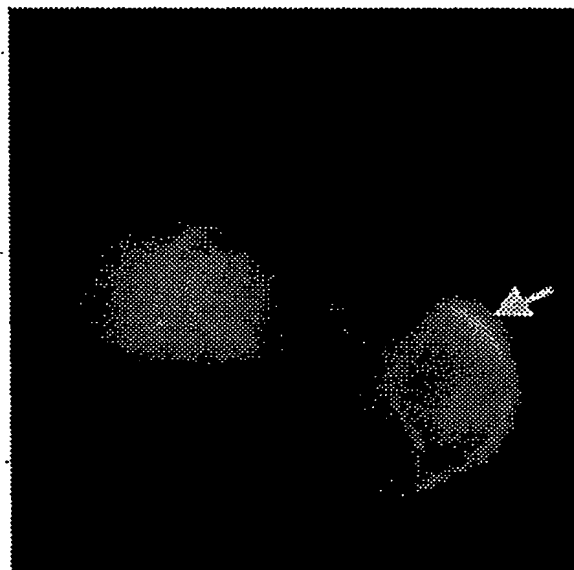
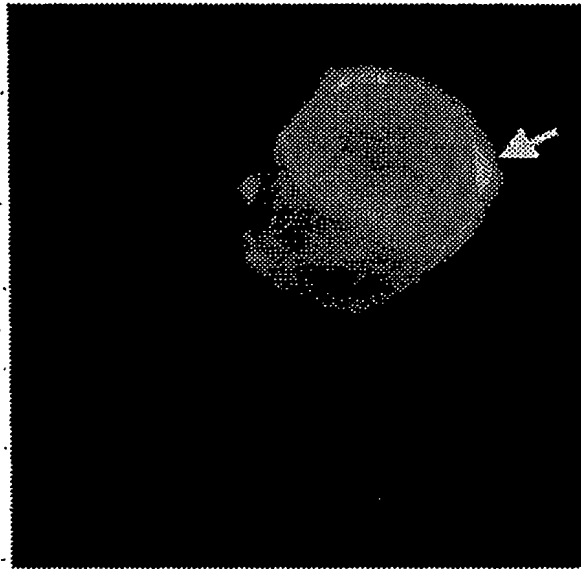
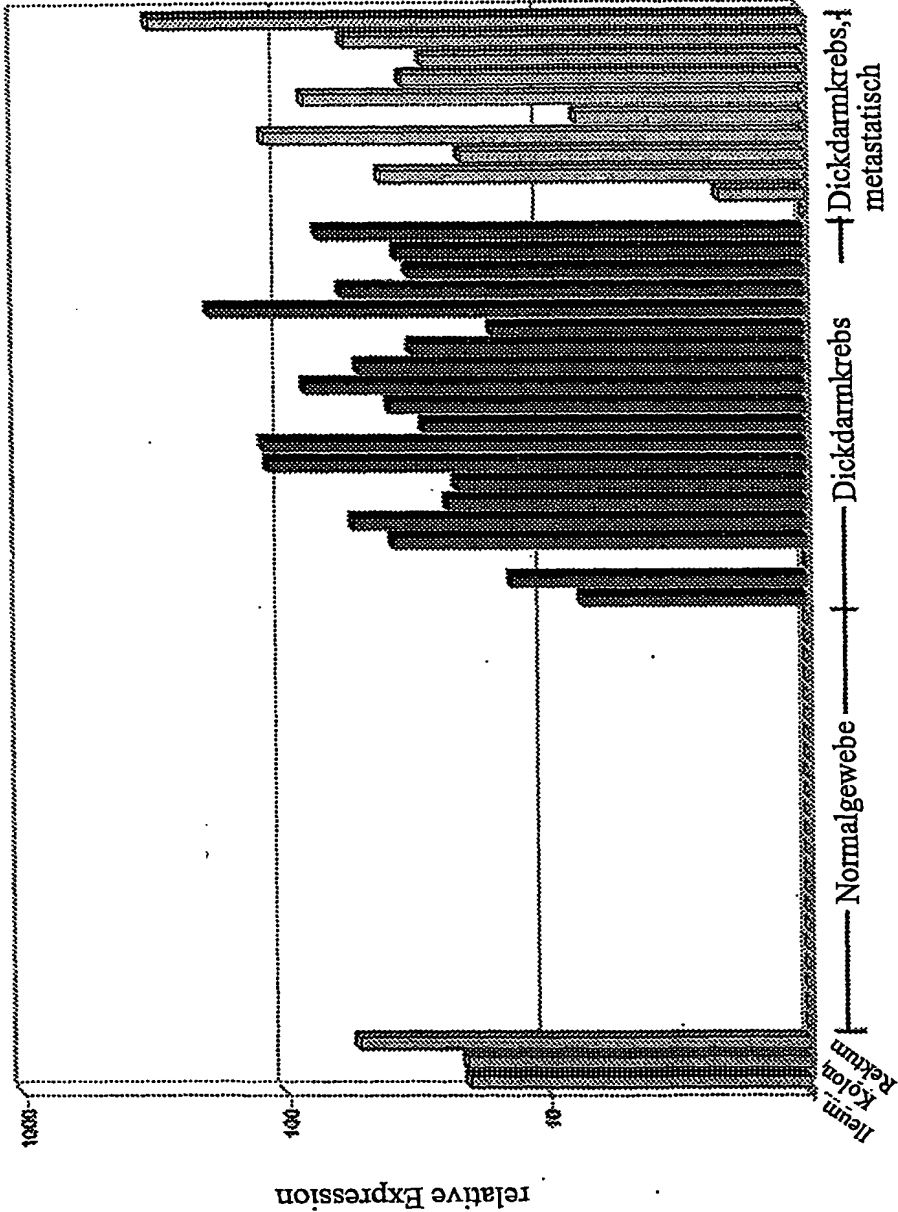


Abb. 17

Abb. 18



Krebstyp	Expression	%
kolorektal, primär	19/20	95
kolorektal, metast.	14/15	93

B

Abb. 19

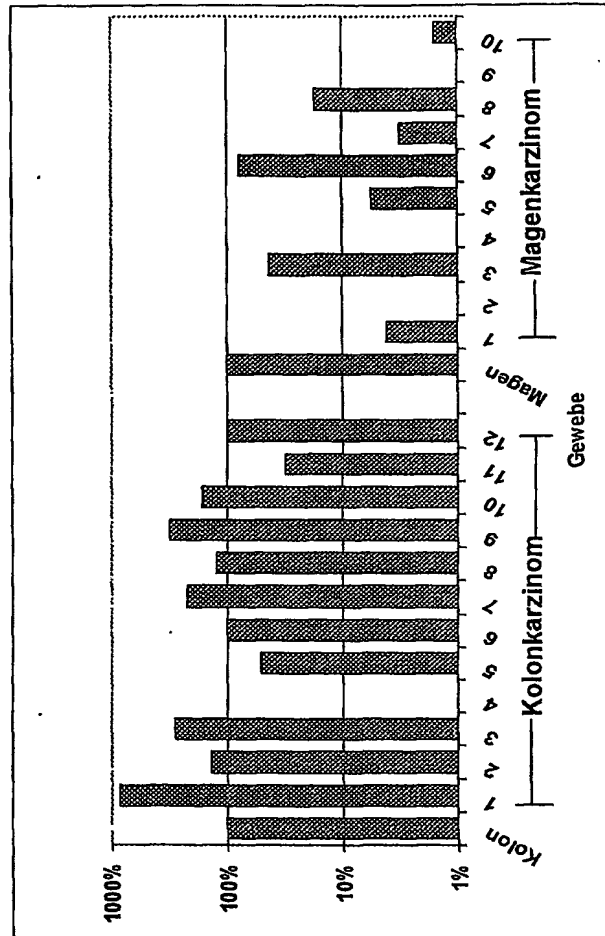
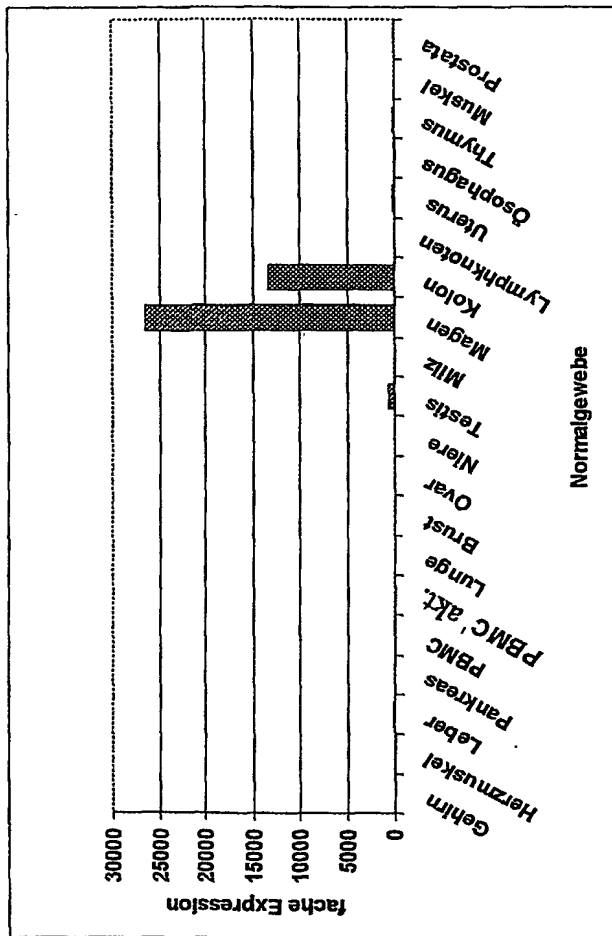


Abb. 20

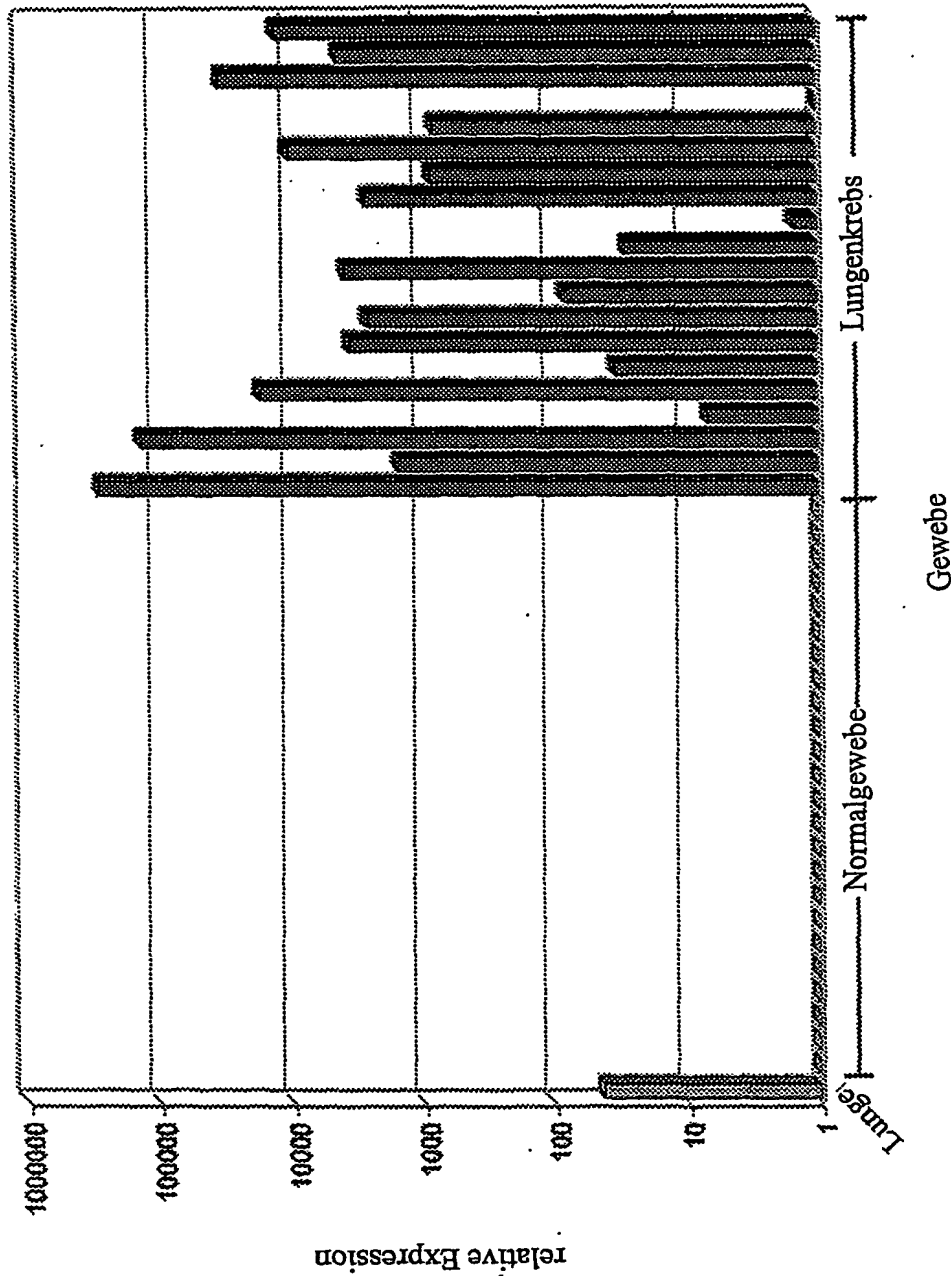
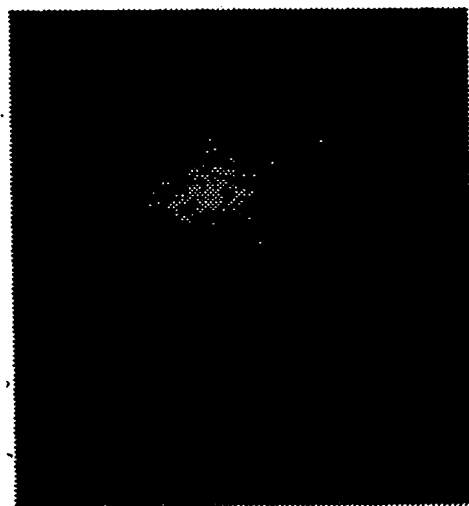
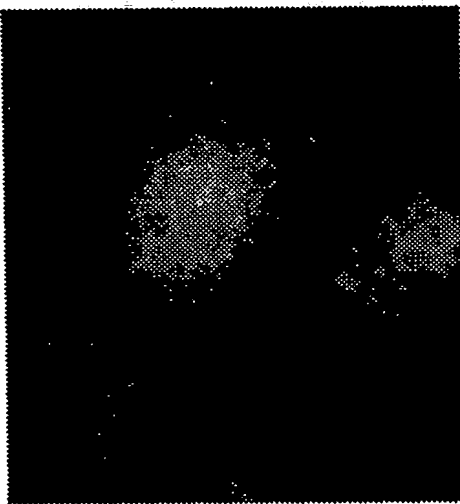


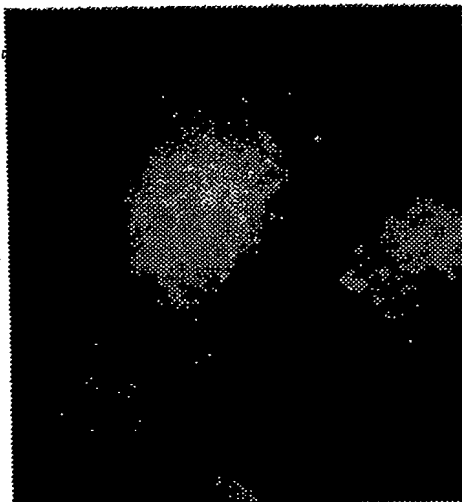
Abb. 21



A.



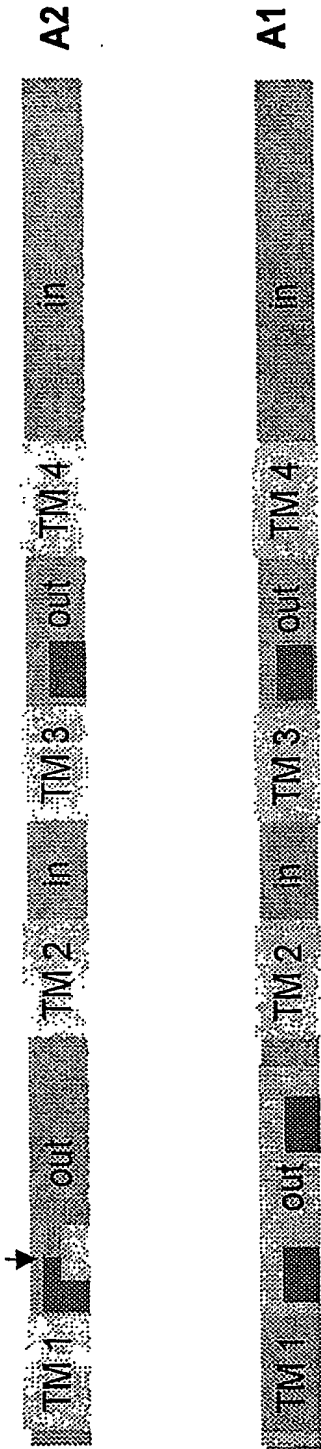
B.



C.

Abb. 22

Potentielle Glykosylierungsstelle



Prädizierte Glykosylierungsstellen (Aminosäurepositionen)

Magen-Variante			Lungen-Variante		
SeqName	Position	Potentielles Jury NGlyc Agreement Ergebnis	SeqName	Position	Potentielles Jury NGlyc Agreement Ergebnis
Sequenz	37	0.7219 (9/9)	Sequenz	38	0.7102 (9/9)
Sequenz	38	0.6502 (8/9)	Sequenz	116	0.5713 (7/9)
Sequenz	45	0.6026 (8/9)	Sequenz	141	0.6347 (7/9)
Sequenz	116	0.5713 (7/9)	Sequenz	146	0.5186 (6/9)
Sequenz	141	0.6348 (7/9)	Sequenz	153	0.4696 (5/9)
Sequenz	146	0.5187 (6/9)	Sequenz	205	0.6009 (8/9)
Sequenz	153	0.4696 (5/9)	Sequenz	234	0.3956 (8/9)
Sequenz	205	0.6011 (8/9)	Sequenz	237	0.4603 (6/9)
Sequenz	234	0.3960 (8/9)			
Sequenz	237	0.4602 (6/9)			

Abb. 23

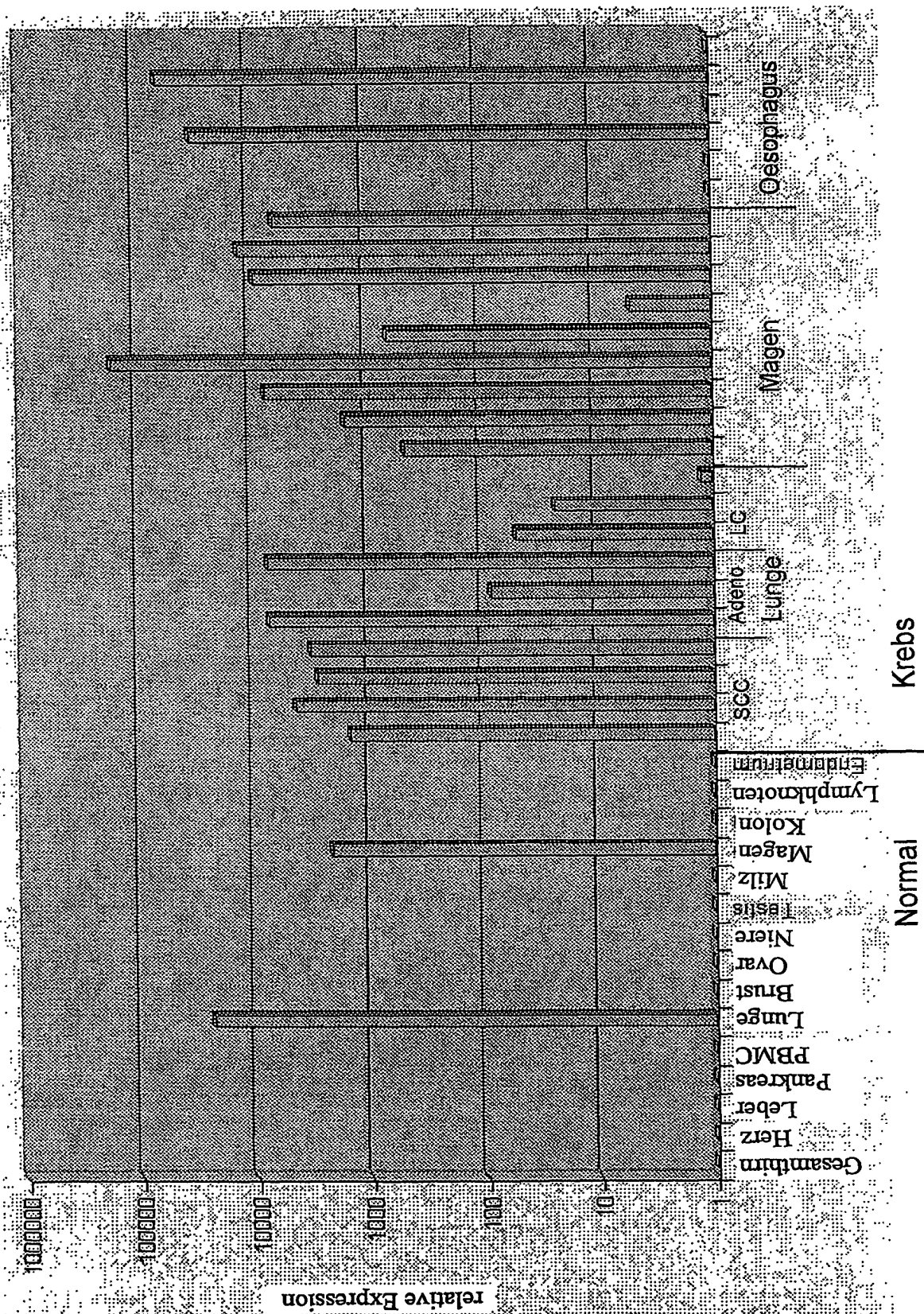




Abb. 24

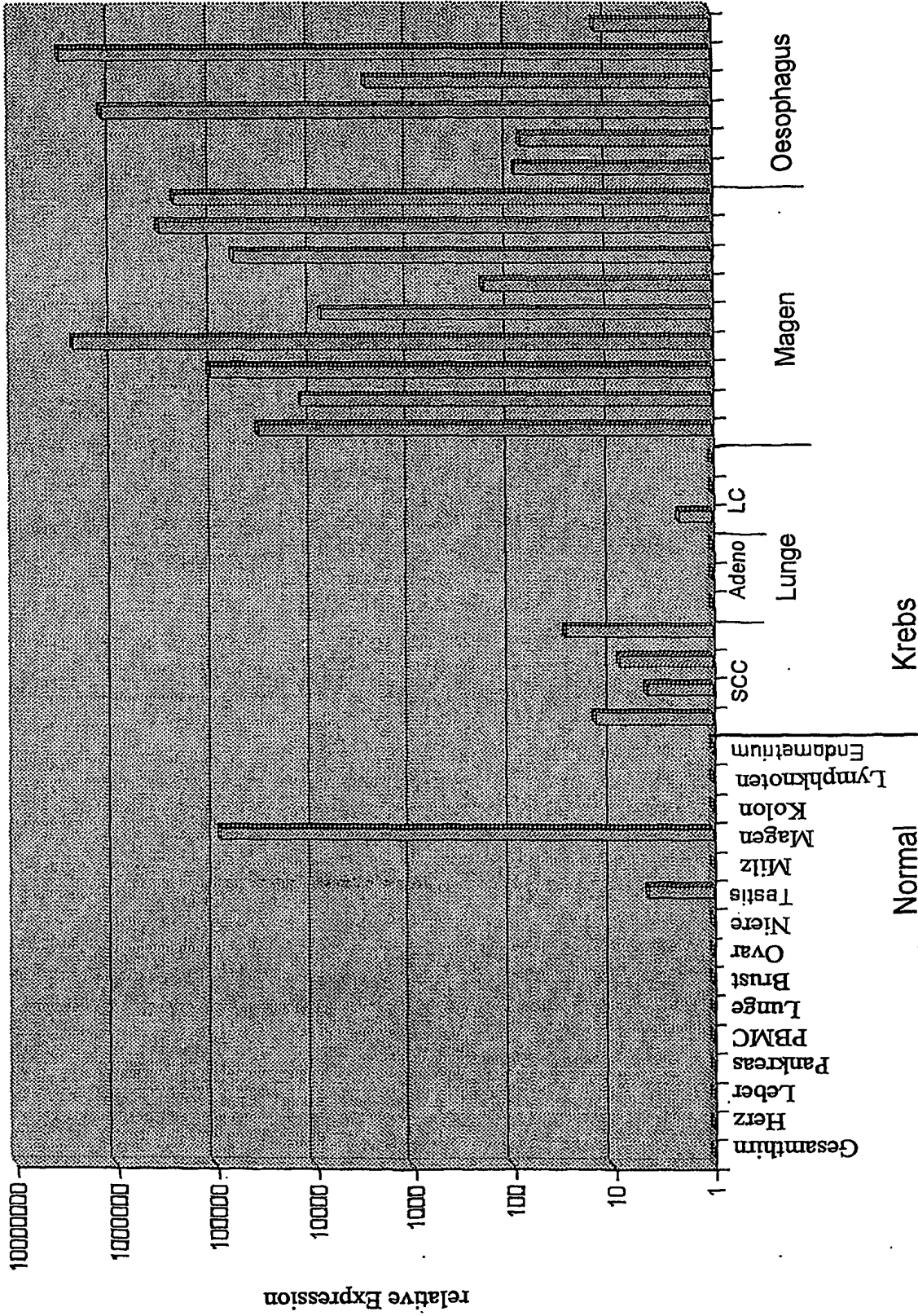
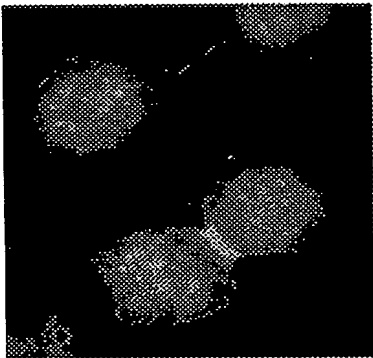
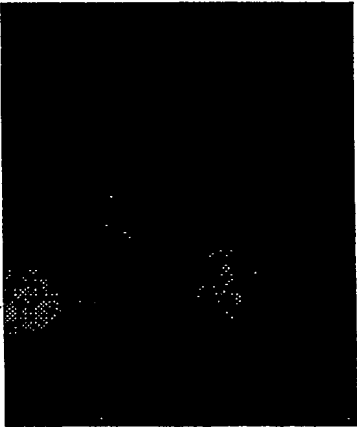


Abb. 25



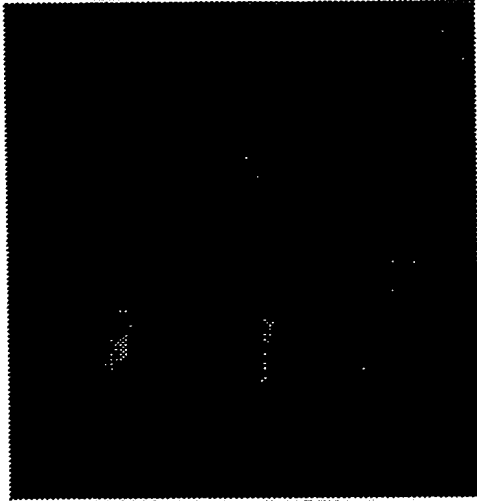
B.



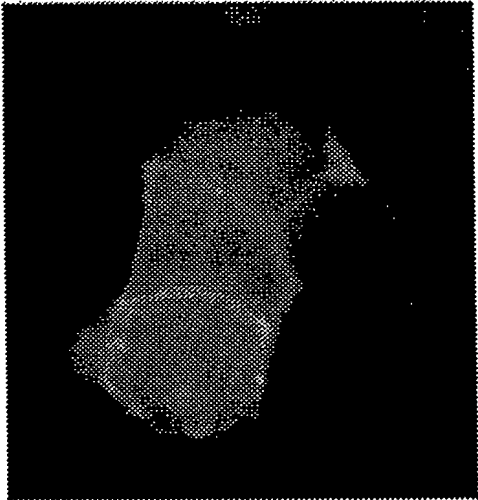
A.



C.

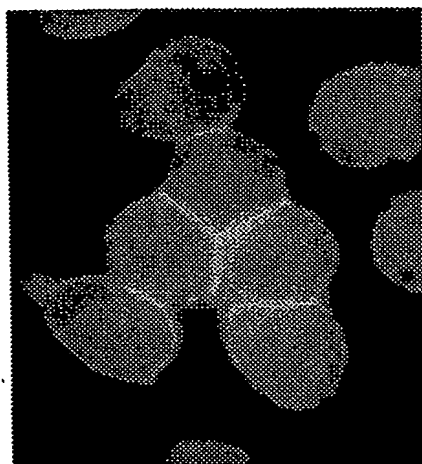


B.

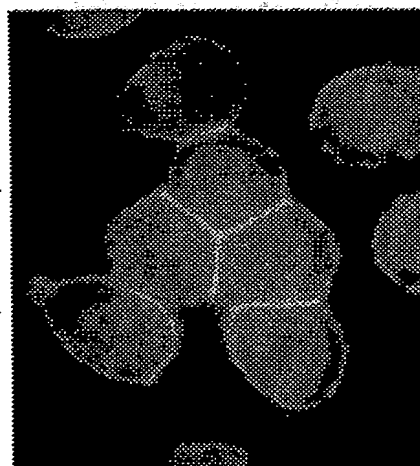


A.

Abb. 26



C.



B.



A.

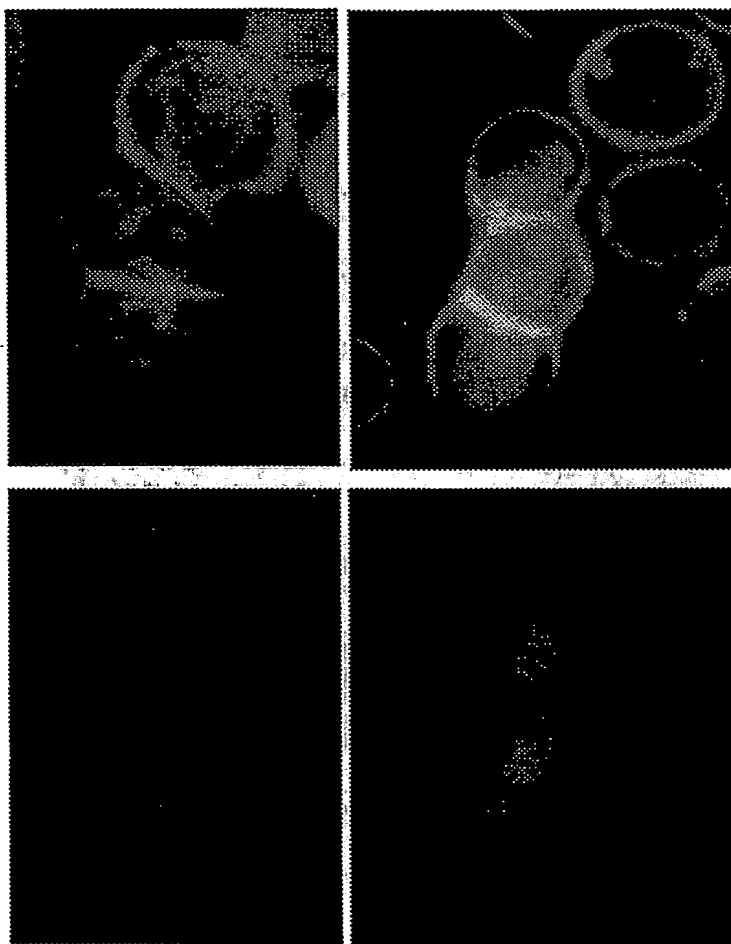
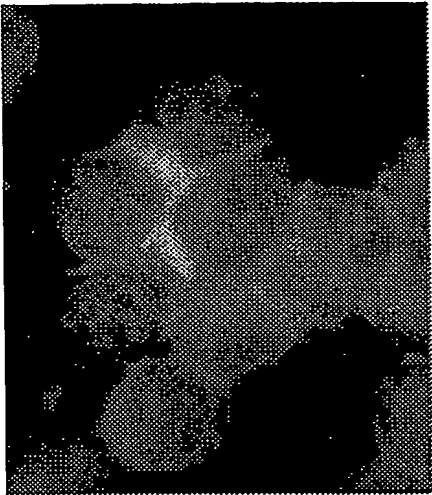
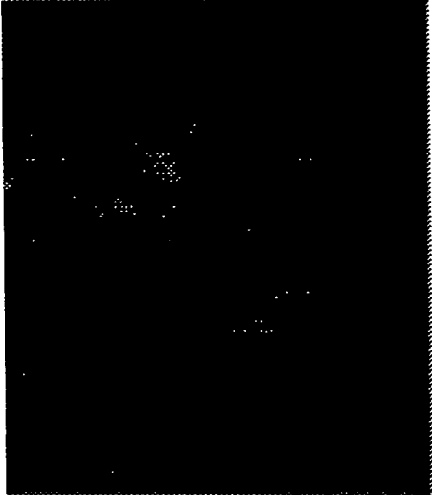


Abb. 27

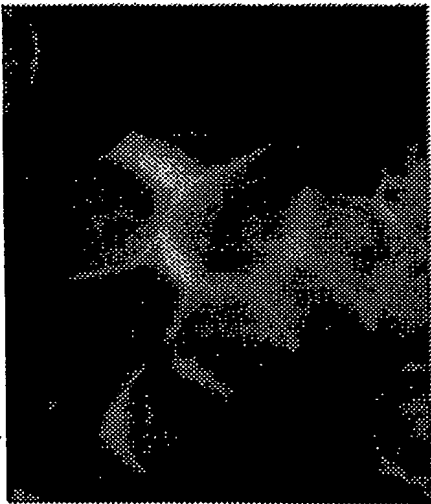
Abb. 28



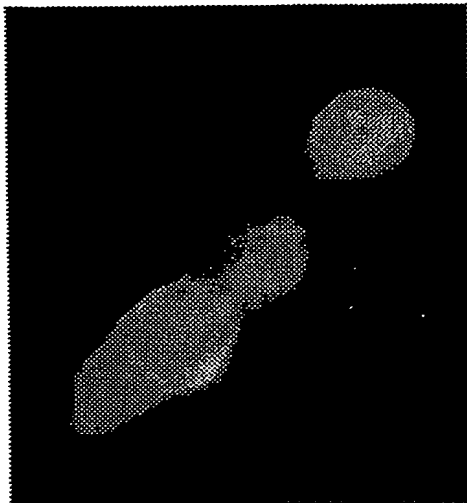
A.



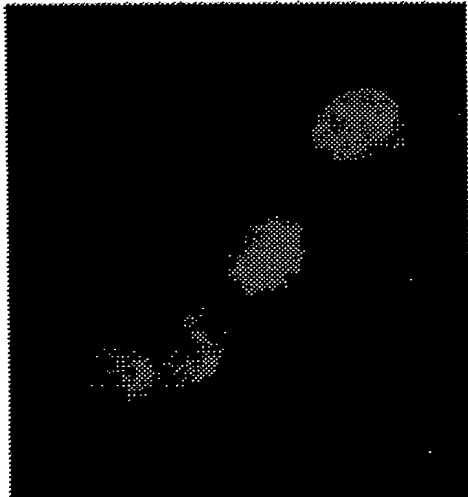
B.



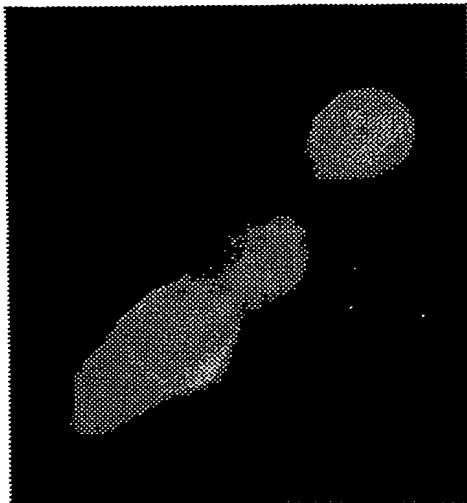
C.



A.

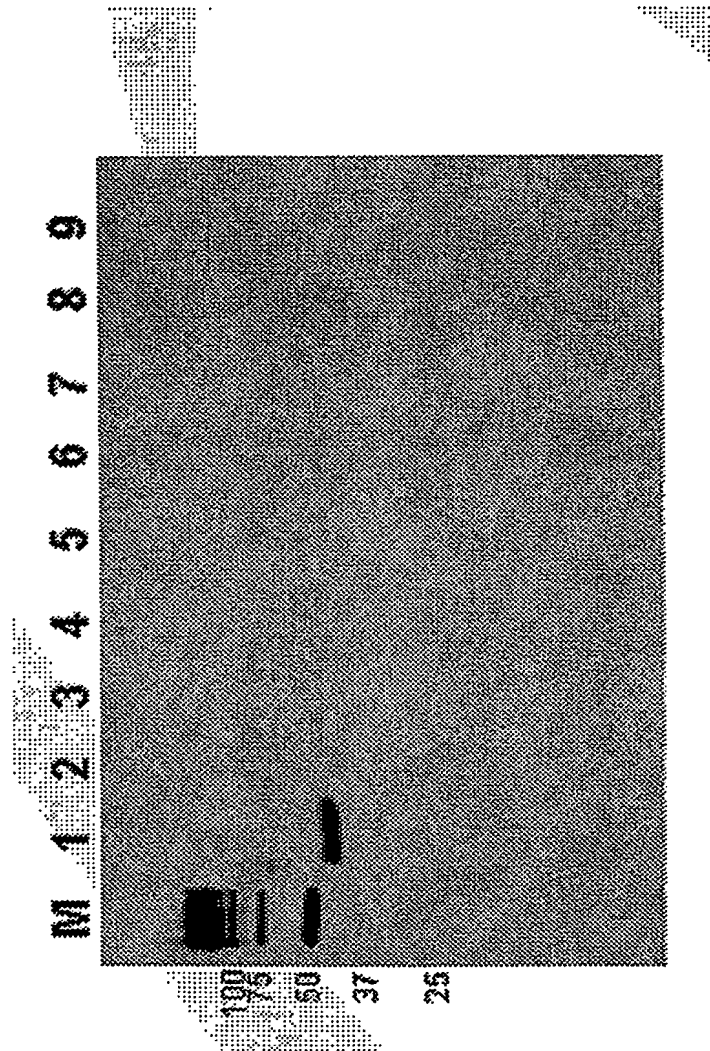


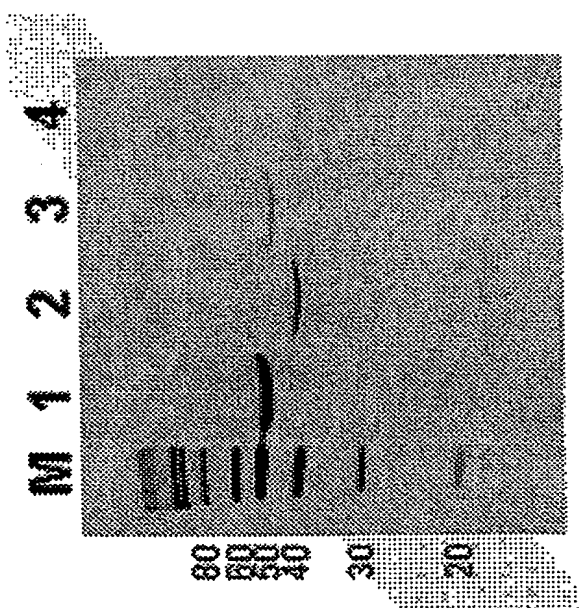
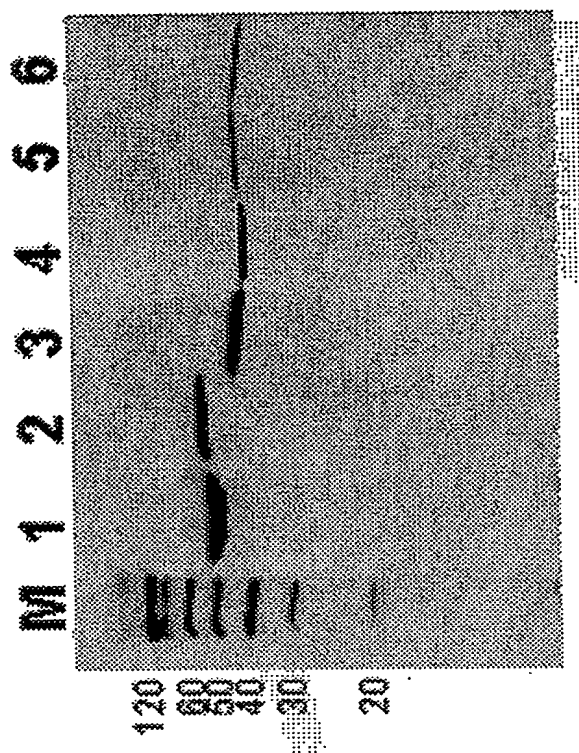
B.



C.

Abb. 29





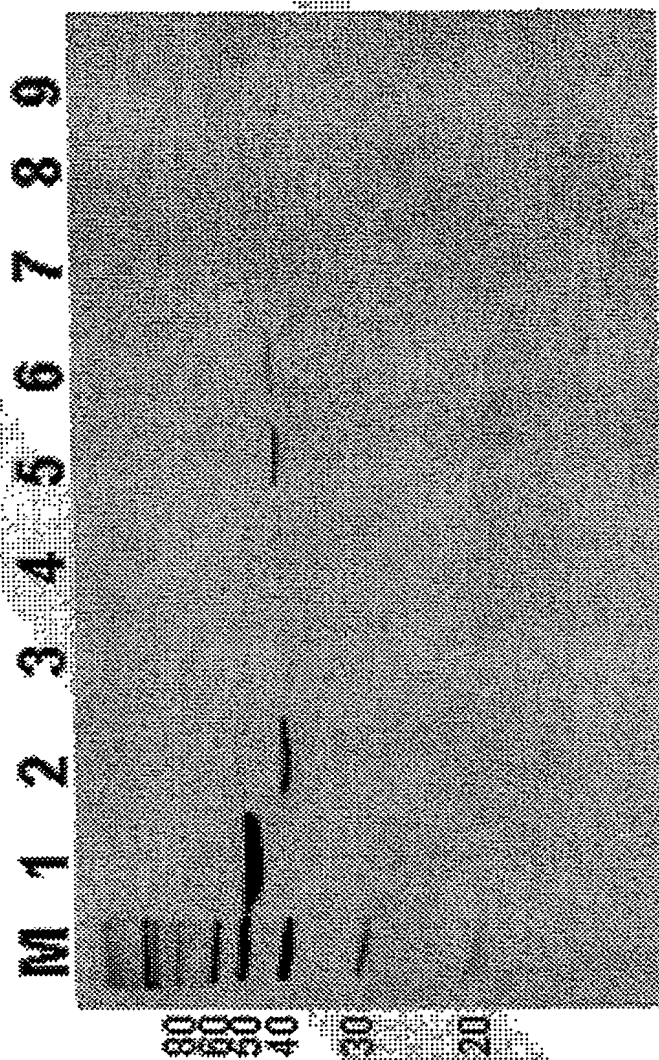


Abb. 31



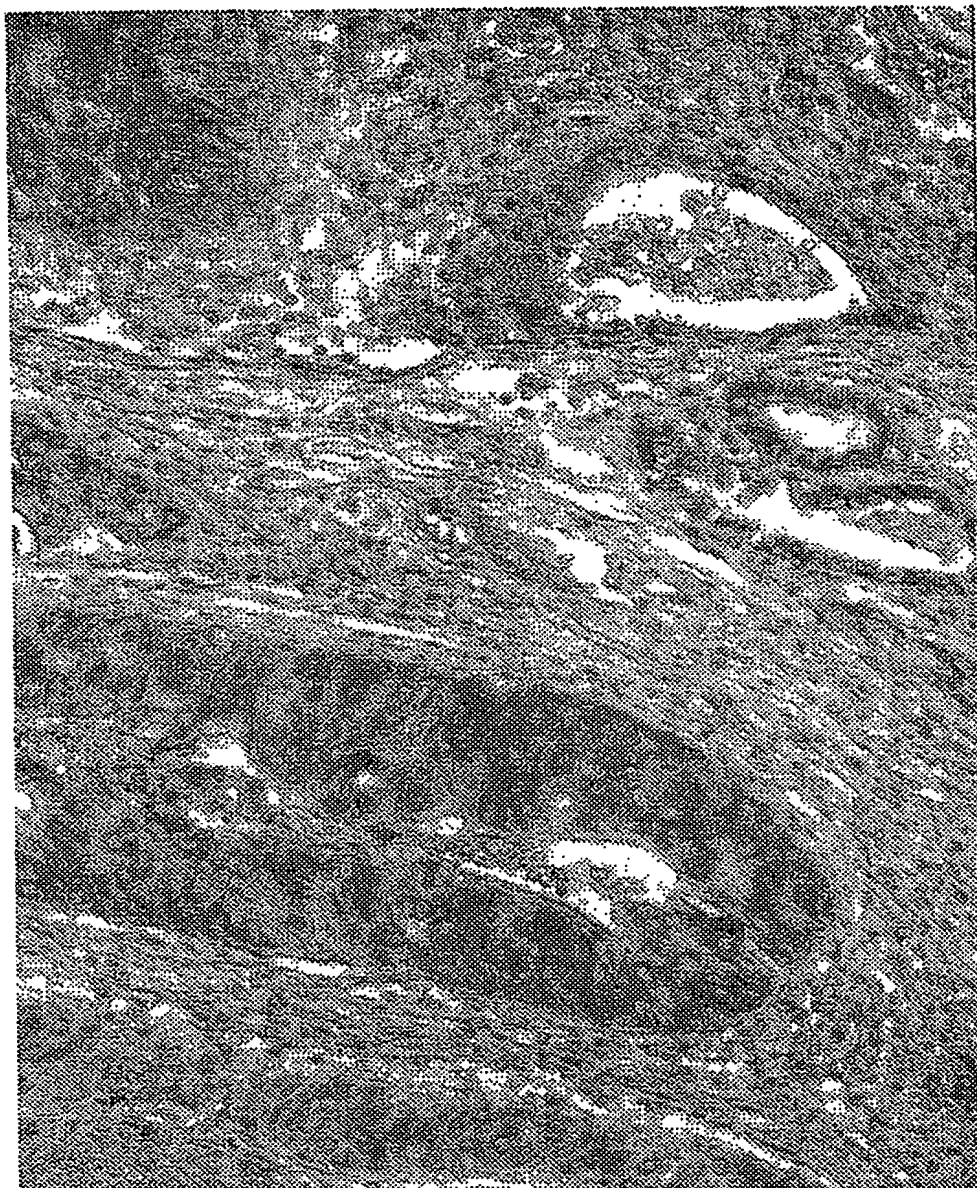
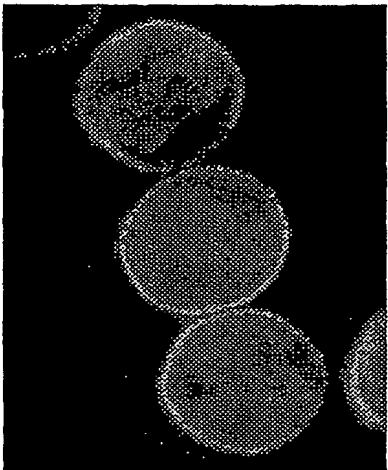
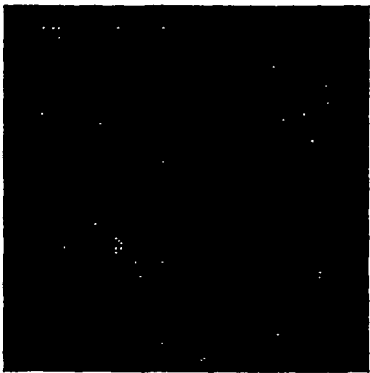


Abb. 32



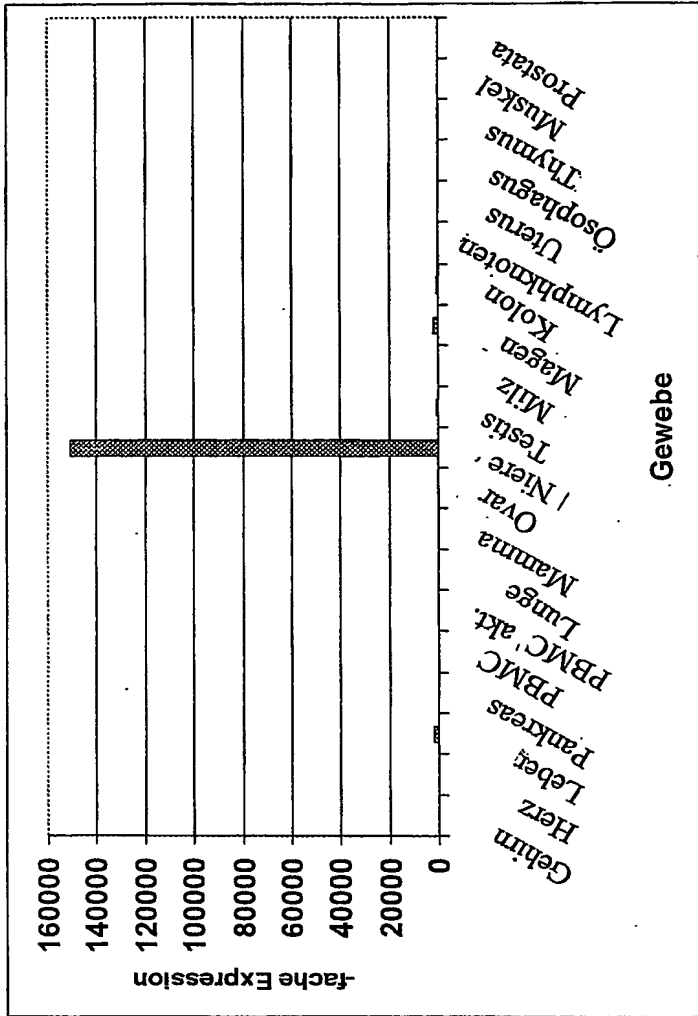
B.



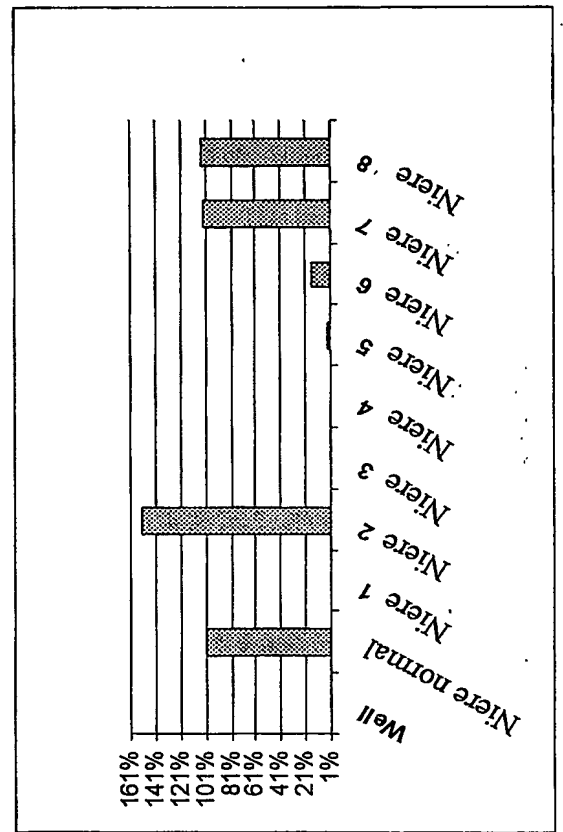
A.

Abb. 33

Abb. 34



A



B

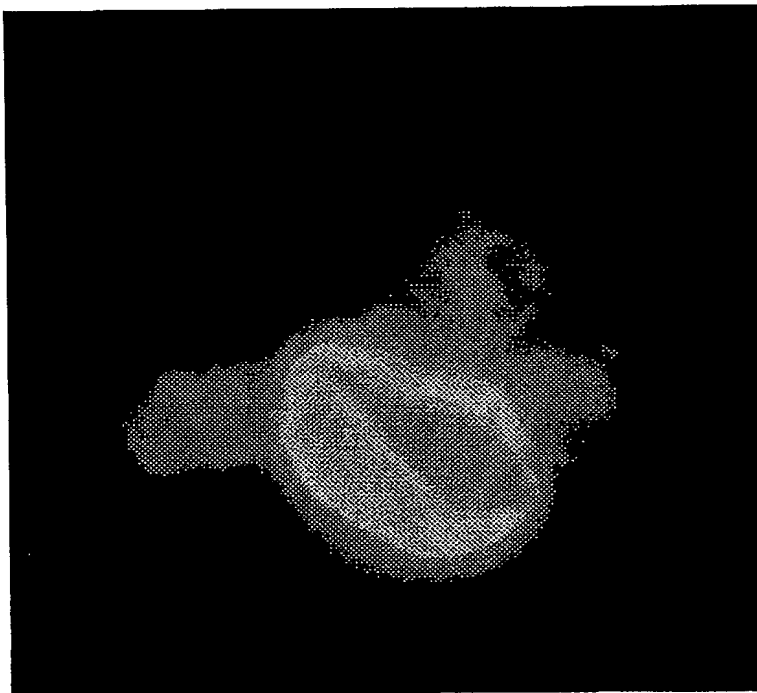
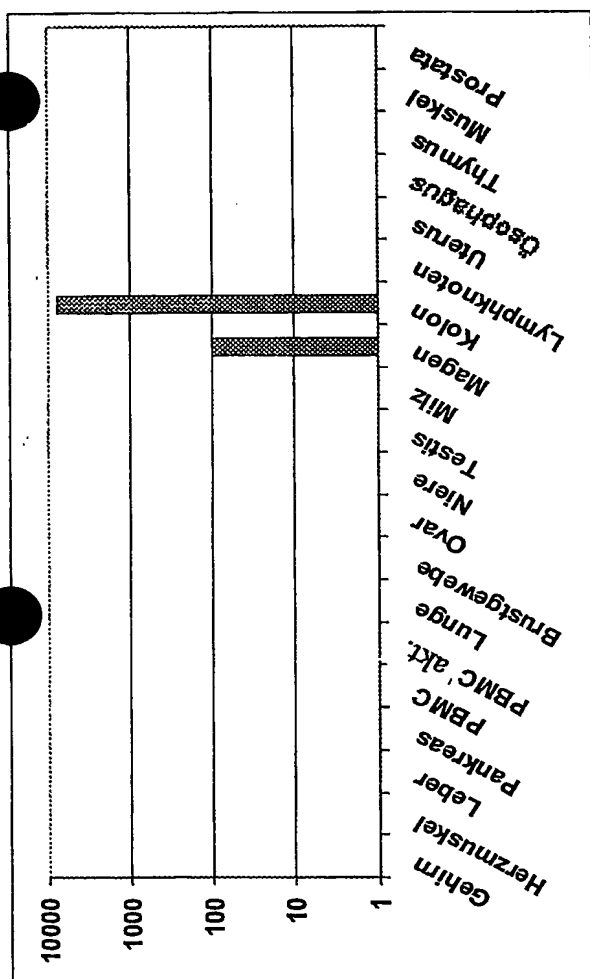
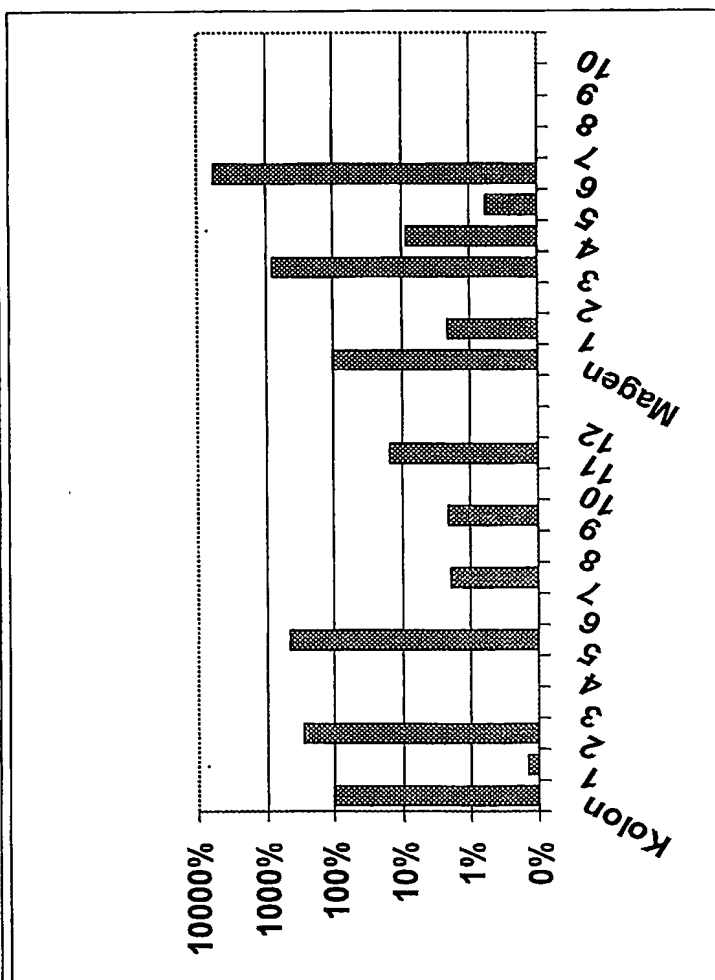


Abb. 35

Abb. 36

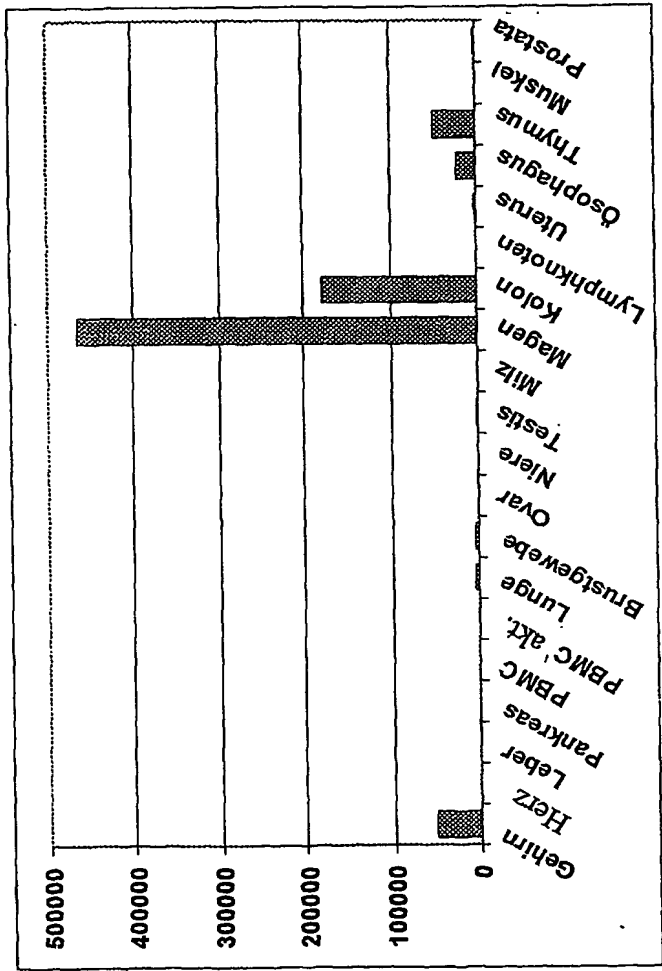


A

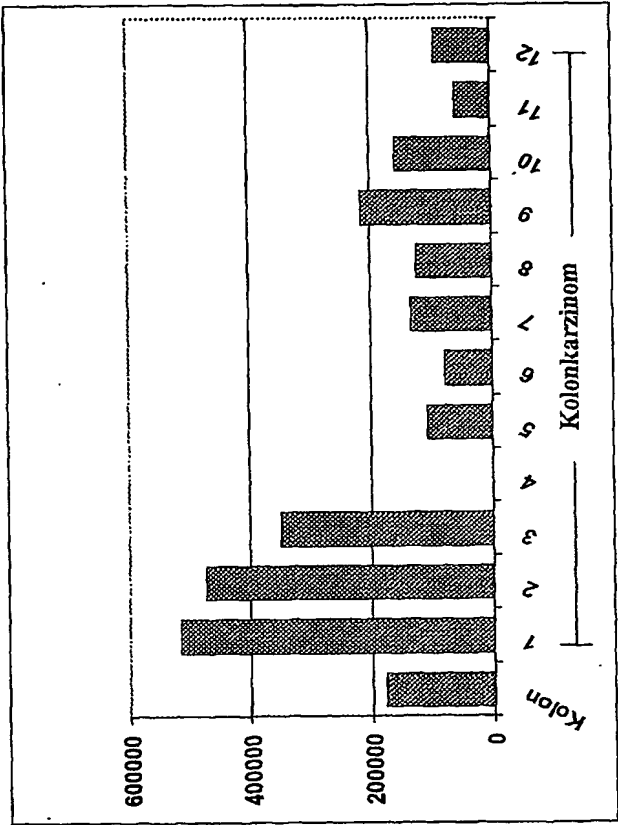


B

Abb. 37

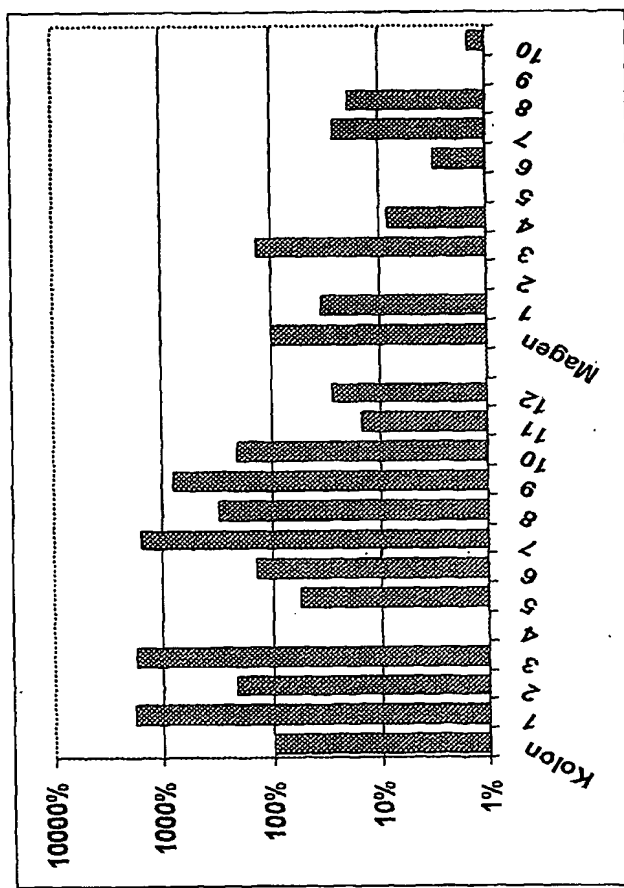
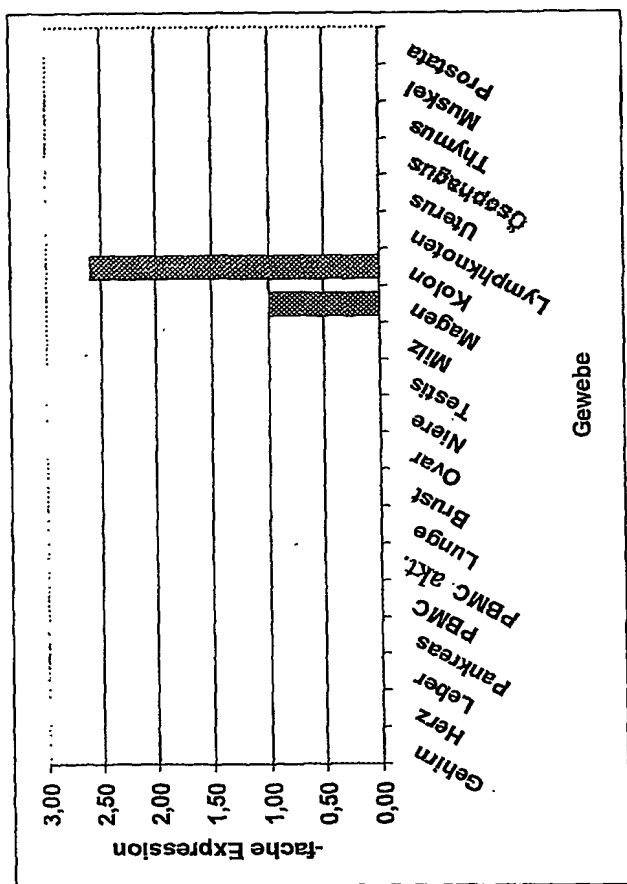


A



B

Abb. 38



**Abb. 39**

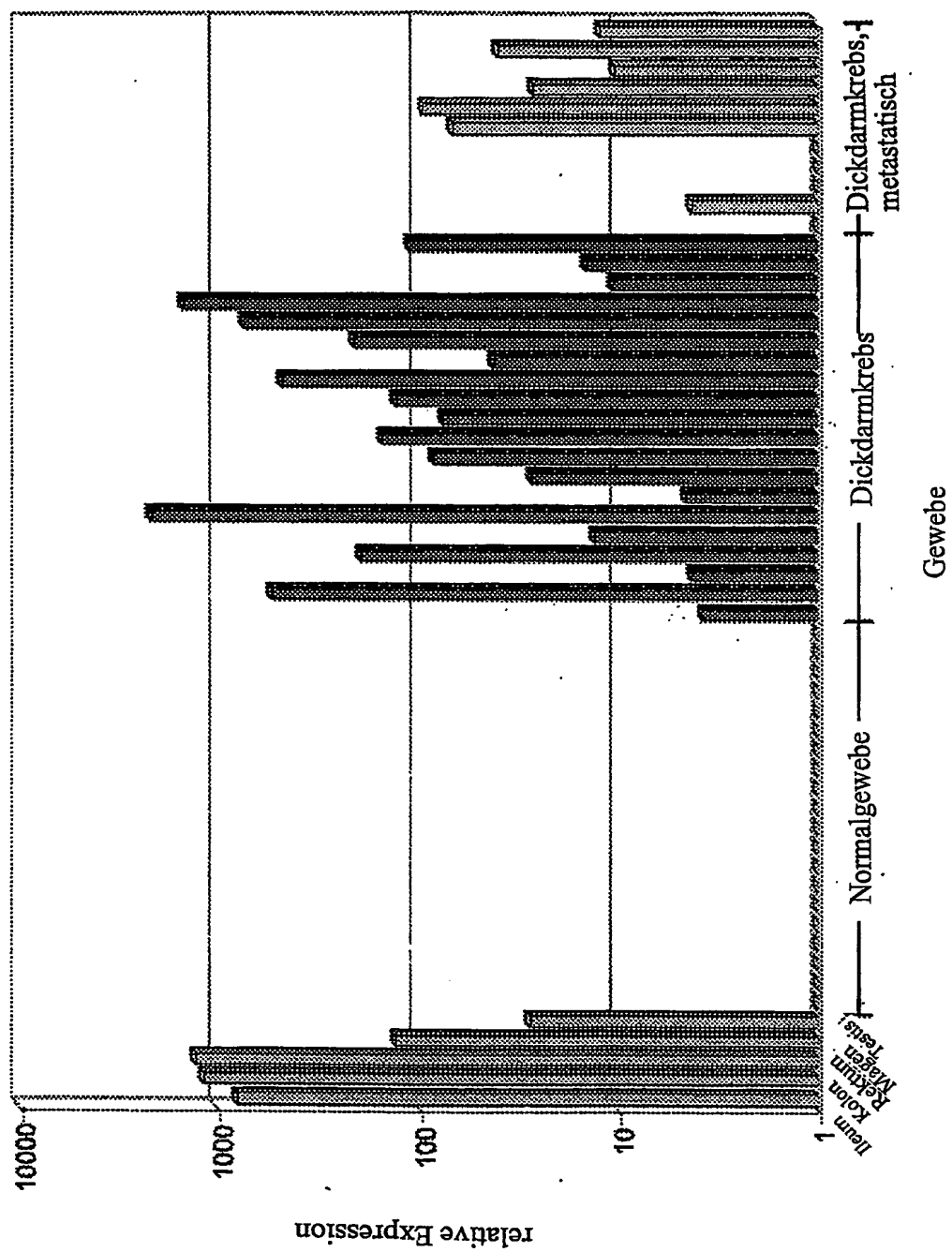




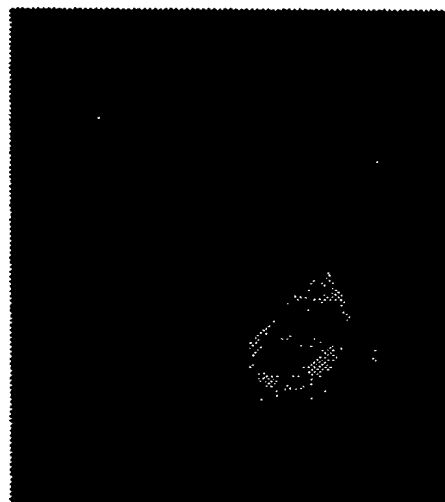
Abb. 40



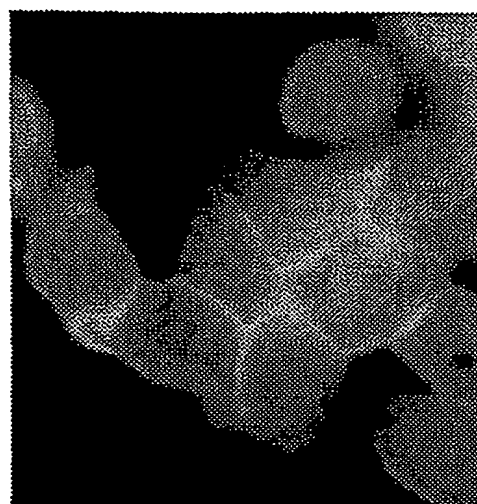
C



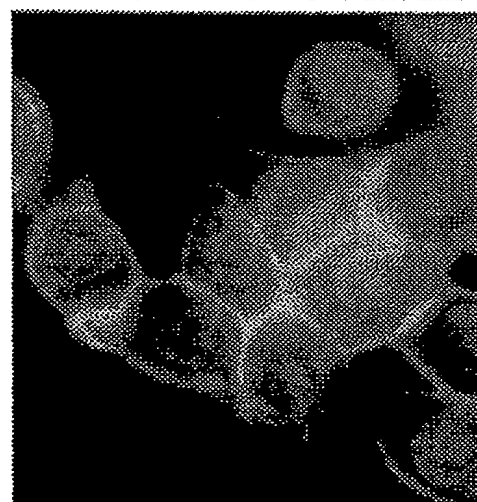
B



A



C



B



A

Abb. 41

ID	Sequenz
#1	caggccagagtcccagctgtcctggactctgctgtggggaagggtgatgcaggtgtgga gtcaaatgtgggtgcctcctgcagccgggtgccaggaggggtggaggggccaacctgggc tttgtccgggagcctggtcttcccgctccttgggctgacaggtgctgctgcctctgagccc tccctgctaagagctgtgtgctgggtaaggctggtggccctttgggctccctgtccagga tttgtgctctggagggttagggcttgcctgggctggggactggaggggaaagtggagctcct tctgctcctttctcctgccccatgacagcaggcagatcccaggagagaagagctcaggaga tgggaagaggtatctgtccagggttagacctcaagggtgacttggagttctttacggcac ccatgctttctttgaggagttttgtgtttgtgggtgtggggtcggggtcacctcctccc acatccctgcccagaggtgggcagagtgggggcagtgccctgtcctccctgctcgctctc tgctgacctccggtccctgtgctgccccaggaccatgaatggcacctacaacacctgtg gctccagcgacctcacctggccccagcgatcaagctgggcttctacgcctacttgggcg tctgtcgtggtgcttaggcctgctgctcaacagcctggcgctctgggtgttctgctgcgca tgacagtggtgacggagacccgcacatctacatgaccaacctggcggtggccgacctctgcc tgctgtgaccttgccttctgctgctgacctcctgcgagacacctcagacacgctgtg gccagctctcccagggtcctacctgaccaacagggtacatgagcatcagcctggtcacgg ccatcgccgtggaccgctatgtggcgtgcggcaccgctgcgtgcccgcgggtgcgggt cccccaggcaggtgcggcgctgtgcgcggtcctctgggtgctggtcatcggtcctgtg tggctcgctggctcctggggttcaaggagggcggtctctgcttcaggagcaccggcaca atttcaactccatggcgttcccgctgctgggattctacctgcccctggcgtggtggtct tctgctcctgaagggtggtgactgcctggcccagaggccaccaccgacgtggggcagg cagaggccaccgcgaaggctgcccgcacatggtctgggccaacctcctggtgttctggtct gcttctgcccctgcagctggggctgacagtgcgctcgagtggtggaaacgctgtg cctcctggagacgatccgtcgccctgtacataaccagcaagctctcagatgccaact gctgctggagcgccatctgctactactacatggccaaggagttccaggaggcgtctgcac tggccgtggtcccagtgctaaggcccaaaaagccaggactctctgtgcgtgacctcg cctaagaggcgtgctgtgggctgctgtggccagggtctcgggggctccgggaggtgctgcc tgccagggggaagctggaaccagtagcaaggagcccgggatcagccctgaactcactgtgt attctcttgagccttgggtgggcagggaaggccaggtacctgctctcttgggaagaga gagggaacagggaacagggaaggactgaggccagagcaaggccaatgtcagagacccc cggtatggggcctcacacttgccacccccagaaaccagctcacctggccagagtgggttcc tgctggccagggtgcagccttgatgacacctgcccgtgcccctcggggtggaataaaac tccccaccagagtc
#2	ATGAAGACGTTGCTGTTGGACTTGGCTTTTGTGGTCACTGCTCTTCCAGCCCGGGTGGCTGTCTTTAGTT CCAGGTGAGTCAGAAGTCCACAAATGGCAGCTATGAAATCAGCGTCCTGATGATGGGCAACTCAGCCTT TGCAGAGCCCTGAAAACTTGAAGATGCGGTGAATGAGGGGCTGGAAATAGTGAGAGGACGTCTGCAA AATGCTGGCCTAAATGTGACTGTGAACGCTACTTTTATGATTTCGGATGGTCTGATTCACTAACCTCAGCG ACTGCCGGAGTAGCACCTGTGAAGGCCTCGACCTACTCAGGAAAATTTCAAATGCACAACGGATGGGCTG TGCTCTCATAGGGCCCTCATGTACATACTCCACCTTCCAGATGTACCTTGACACAGAATTGAGCTACCCC ATGATCTCAGCTGGAAGTTTGGATTGTCTGACTATAAAGAAACCTTAACAGGCTGATGTCTCCAG CTAGAAAAGTTGATGTACTTCTTGGTTAACTTTTGGAAAACCAACGATCTGCCCTTCAAACCTTATTCTCTG GAGCACTTCGTATGTTTACAAGAATGGTACAGAACTGAGGACTGTTTCTGGTACCTTAATGCTCTGGAG GCTAGCGTTTCTTATTCTCCACGAACCTCGGCTTTAAGGTGGTGTAAAGACAAGATAAGGAGTTTCAGG ATATCTTAATGGACCACAACAGGAAAAGCAATGTGATTATTATGTGTGGTGGTCCAGAGTTCTCTACAA GCTGAAGGGTGACCGAGCAGTGGCTGAAGACATTGTCAATTATTCTAGTGGATCTTTTCAATGACCAGTAC TTGGAGGACAATGTCACAGCCCTGACTATATGAAAAATGTCTTGTCTGACGCTGTCTCTGGGAATT CCCTTCTAAATAGCTCTTCTCCAGGAATCTATCACCACAAAACGAGACTTTGCTCTTGCCTATTTGAA TGGAATCTGCTCTTTGGACATATGCTGAAGATATTTCTTGAACATGGAGAAAATATTACCACCCCAAA TTTGCTCATGCTTTTCAAGAACTCACTTTTGAAGGTATGACGGTCCAGTGACCTTGGATGACTGGGGGG ATGTTGACAGTACCATGGTGCTTCTGTATACCTCTGTGGACACCAAGAAATACAAGGTTCTTTGACCTA TGATACCCACGTAATAAGACCTATCCTGTGGATATGAGCCCAACATTCATTGGAAGAACTCTAACTT CTAATGATATTACAGGCCGGGGCCCTCAGATCCTGATGATTGCACTCTTACCCTCACTGGAGCTGTGG TGCTGCTCCTGCTCGTCTCTCTGATGCTCAGAAAATATAGAAAAGATTATGAACCTCGTCAGAAAAA ATGGTCCACATTCCTCCTGAAAATATCTTTCTCTGGAGACCAATGAGACCAATCATGTTAGCCTCAAG ATCGATGATGACAAAAGACGAGATACAATCCAGAGACTACGACAGTGCAAAATACGACAAAAGCGAGTGA TTCTCAAAGATCTCAAGCACAATGATGGTAATTTCACTGAAAAACAGAAAGATAGAATTGAACAAGTTGCT TCAGATTGACTATTACAACCTGACCAAGTTCTACGGCACAGTGAACTTGATACCATGATCTTCTGGGGTG ATAGAATACTGTGAGAGAGGATCCCTCCGGGAAGTTTAAATGACACAATTTCTACCCTGATGGCACAT TCATGGATTGGGAGTTTAAAGATCTCTGTCTTGTATGACATTGCTAAGGGAATGTATATCTGCACTCCAG TAAGACAGAAGTCCATGGTCTGTGAAATCTACCAACTGCGTAGTGGACAGTAGAATGGTGGTGAAGATC

	ACTGATTTTGGCTGCAATTCCATTTTACCTCCAAAAAGGACCTGTGGACAGCTCCAGAGCACCTCCGCC AAGCCAACATCTCTCAGAAAGGAGATGTGTACAGCTATGGGATCATCGCACAGGAGATCATTTCTCGGGAA AGAAACCTTCTACACTTTGAGCTGTGGGACCGGAATGAGAAGATTTTTCAGAGTGGAAAAATCCAATGGA ATGAAACCTTTCGCCCAGATTTATTCTTGGAAACAGCAGAGGAAAAAGAGCTAGAAGTGTACCTACTTG TAAAAAAGTGTGGGAGGAAGATCCAGAAAAGAGACCAGATTTCAAAAAAATTGAGACTACACTTGCCAA GATATTTGGACTTTTTCATGACCAAAAAAATGAAAGCTATATGGATACCTTGATCCGACGCTACAGCTA TATTTCTCGAAACCTGGAACATCTGGTAGAGGAAAGGACACAGCTGTACAAGGCAGAGAGGGACAGGGCTG ACAGACTTAACCTTTATGTTGCTTCCAAGGCTAGTGGTAAAGTCTCTGAAGGAGAAAGGCTTTGTGGAGCC GGAATATATGAGGAAGTTACAATCTACTTCAGTGACATTGTAGGTTTCACTACTATCTGCAATACAGC ACCCCATGGAAGTGGTGGACATGCTTAATGACATCTATAAGAGTTTTGACCACATTGTTGATCATCATG ATGTCTACAAGGTGGAAACCATCGGTGATGCGTACATGGTGGCTAGTGGTTTTGCCTAAGAGAAATGGCAA TCGGCATGCAATAGACATTGCCAAGATGGCCTTGGAAATCCTCAGCTTCATGGGGACCTTTGAGCTGGAG CATCTTCTGGCCTCCCAATATGGATTGCGATTGGAGTTCACTCTGGTCCCTGTGCTGCTGGAGTTGTGG GAATCAAGATGCCCTCGTTATTTGCTATTTGGAGATACGGTCAACACAGCCTCTAGGATGGAATCCAATGG CCTCCCTTTGAGAATTCACGTGAGTGGCTCCACCATAGCCATCCTGAAGAGAAGTGAAGTCCAGTTCCCTT TATGAAGTGAGAGGAGAAACATACTTAAAGGGAAGAGGAAATGAGACTACCTACTGGCTGACTGGGATGA AGGACCAGAAATTAACCTGCCAACCCTCCTACTGTGGAGAATCAACAGCGTTTGCAAGCAGAAATTTTC AGACATGATTGCCAATCTTTACAGAAAAGACAGGCAGGAGGATAAGAAGCCAAAAACCCAGACGGGTA GCACGCTATAAAAAAGGCACTCTGGAATACTTGCAGCTGAATACCACAGACAAGGAGAGCACCTATTTTT AA
#3	ATGAAGACGTTGCTGTTGGACTTGGCTTTGTGGTCACTGCTCTTCCAGCCCGGGTGGCTGTCTTTAGTT CCCAGGTGAGTCAGAACTGCCACAATGGCAGCTATGAAATCAGCGTCCTGATGATGGGCAACTCAGCCTT TGCAGAGCCCCCTGAAAACTTGGAAAGATGCGGTGAATGAGGGGCTGGAAATAGTGAGAGGACGTCGCAA AATGCTGGCCTAAATGTGACTGTGAACGCTACTTTTCATGTATTTCGGATGGTCTGATTATAACTCAGGCG ACTGCCGGAGTAGCACCTGTGAAGGCTCGACCTACTCAGGAAAATTTACACCTTGA
#4	ATGAAGACGTTGCTGTTGGACTTGGCTTTGTGGTCACTGCTCTTCCAGCCCGGGTGGCTGTCTTTAGTT CCCAGGTGAGTCAGAACTGCCACAATGGCAGCTATGAAATCAGCGTCCTGATGATGGGCAACTCAGCCTT TGCAGAGCCCCCTGAAAACTTGGAAAGATGCGGTGAATGAGGGGCTGGAAATAGTGAGAGGACGTCGCAA AATGCTGGCCTAAATGTGACTGTGAACGCTACTTTTCATGTATTTCGGATGGTCTGATTATAACTCAGGCG ACTGCCGGAGTAGCACCTGTGAAGGCTCGACCTACTCAGGAAAATTTCAAATGCACAACGGATGGGCTG TGTCCTCATAGGGCCCTCATGTACATACTCCACCTTCCAGATGTACCTTGACACAGAATTGAGCTACCCC ATGATCTCAGCTGGAAGTTTTGGATTGTCTGTGACTATAAAGAAACCTTAACCAGGCTGATGTCTCCAG CTAGAAAGTTGATGTACTTCTTGGTTAACTTTTGGAAAACCAACGATCTGCCCTTCAAACTTATTCTTG GAGCACTTCGTATGTTTACAAGAATGGTACAGAACTGAGGACTGTTTCTGGTACCTTAATGCTCTGGAG GCTAGCGTTTCTTATTTCTCCACGAACCTCGGCTTTAAGGTGGTGTAAAGACAAGATAAGGAGTTTCAGG ATATCTTAATGGACCACAACAGGAAAAGCAATGTGACCAGTACTTGGAGGACAATGTACAGCCCCCTGAC TATATGA
#5	ATGAAGACGTTGCTGTTGGACTTGGCTTTGTGGTCACTGCTCTTCCAGCCCGGGTGGCTGTCTTTAGTT CCCAGGTGAGTCAGAACTGCCACAATGGCAGCTATGAAATCAGCGTCCTGATGATGGGCAACTCAGCCTT TGCAGAGCCCCCTGAAAACTTGGAAAGATGCGGTGAATGAGGGGCTGGAAATAGTGAGAGGACGTCGCAA AATGCTGGCCTAAATGTGACTGTGAACGCTACTTTTCATGTATTTCGGATGGTCTGATTATAACTCAGGCG ACTGCCGGAGTAGCACCTGTGAAGGCTCGACCTACTCAGGAAAATTTCAAATGCACAACGGATGGGCTG TGTCCTCATAGGGCCCTCATGTACATACTCCACCTTCCAGATGTACCTTGACACAGAATTGAGCTACCCC ATGATCTCAGCTGGAAGTTTTGGATTGTCTGTGACTATAAAGAAACCTTAACCAGGCTGATGTCTCCAG CTAGAAAGTTGATGTACTTCTTGGTTAACTTTTGGAAAACCAACGATCTGCCCTTCAAACTTATTCTTG GAGCACTTCGTATGTTTACAAGAATGGTACAGAACTGAGGACTGTTTCTGGTACCTTAATGCTCTGGAG GCTAGCGTTTCTTATTTCTCCACGAACCTCGGCTTTAAGGTGGTGTAAAGACAAGATAAGGAGTTTCAGG ATATCTTAATGGACCACAACAGGAAAAGCAATGTGATTATTATGTGTGGTGGTCCAGAGTTCTCTACAA GCTGAAGGGTGACCGAGCAGTGGCTGAAGACATTGTATTATTCTAGTGGATCTTTTCAATGACCACTAC TTGGAGGACAATGTACAGCCCCCTGACTATATGAAAAATGTCTTGTCTGACGCTGTCTCTGGGAATT CCCTTCTAAATAGCTCTTCTCCAGGAATCTATCACCAACAAAACGAGACTTTGCTCTTGCCATTATTGAA TGGAATCCTGCTCTTGGACATATGCTGAAGATATTTCTTGAAATGGAGAAAATATTACCACCCCCAAA TTTGCTCATGCTTTCAGGAATCTCACTTTTGAAGGTATGACGGTCCAGTGACCTTGGATGACTGGGGGG ATGTTGACAGTACCATGGTGTCTGTATACCTCTGTGGACACCAAGAAATACAAGGTTCTTTTGACCTA TGATACCCACGTAATAAGACCTATCTGTGGATATGAGCCCCACATTCACTTGGAAAGAACTCTAAACTT CCTAATGATATTACAGGCCGGGGCCCTCAGATCCTGATGATTGCAGTCTTACCCTCACTGGAGCTGTGG TGCTGCTCCTGCTCGTCTCTCTGATGCTCAGAAAATATAGAAAAGATTATGAAGTTCGTGAGAAAAA ATGGTCCCACATTCCTCCTGAAAAATATCTTCTCTGAGACCAATGAGACCAATCATGTTAGCCTCAAG ATCGATGATGACAAAAGACGAGATACAATCCAGAGACTACGACAGTGCAAATACGACAAAAGCGAGTGA

	<p>TTCTCAAAGATCTCAAGCACAAATGATGGTAATTTCACTGAAAAACAGAAGATAGAATTGAACAAGATTGACTATTACAACCTGACCAAGTTCTACGGCACAGTGAACCTTGATACCATGATCTTCGGGGTGATAGAATAC TGTGAGAGAGGATCCCTCCGGGAAGTTTTAAATGACACAATTTCTACCCTGATGGCACATTCATGGATT GGGAGTTTAAAGATCTCTGTCTTGTATGACATTGCTAAGGGAATGT CATATCTGCACTCCAGTAAGACAGA AGTCCATGGTCGTCTGAAATCTACCAACTGCGTAGTGGACAGTAGAATGGTGGTGAAGATCACTGATTTT GGCTGCAATTCATTTTACCTCCAAAAAGGACCTGTGGACAGCTCCAGAGCACCTCCGCCAAGCCAACA TCTCTCAGAAAGGAGATGTGTACAGCTATGGGATCATCGCACAGGAGATCATTCTGCGGAAAGAACCTT CTACACTTTGAGCTGTTCGGGACCGGAATGAGAAGATTTTCAGAGTGGAAAATCCAATGGAATGAAACCC TTCCGCCCAGATTTATTCTTGGAAACAGCAGAGGAAAAAGAGCTAGAAGTGTACCTACTTGTAAAAAAT GTTGGGAGGAAGATCCAGAAAAGAGACCAGATTTCAAAAAAATTGAGACTACACTTGCCAAGATATTGG ACTTTTTTCATGACCAAAAAAATGAAAGCTATATGGATACCTTGATCCGACGTCTACAGCTATATTCTCGA AACCTGGAACATCTGGTAGAGGAAAGGACACAGCTGTACAAGGCAGAGAGGGACAGGGCTGACAGACTTA ACTTTATGTTGCTTCCAAGGCTAGTGGTAAAGTCTCTGAAGGAGAAAGGCTTTGTGGAGCCGGAATATA TGAGGAAGTTACAATCTACTTCAGTGACATTGTAGGTTTCACTACTATCTGCAAATACAGCACCCCATG GAAGTGGTGGACATGCTTAATGACATCTATAAGAGTTTTGACCACATTGTTGATCATCATGATGTCTACA AAGGTGGAACCATCGGTGATGCGTACATGGTGGCTAGTGGTTTGCCTAAGAGAAATGGCAATCGGCATGC AATAGACATTGCCAAGATGGCCTTGGAATCCTCAGCTTCATGGGGACCTTTGAGCTGGAGCATCTTCCT GGCTCCCAATATGGATTGCGATTGGAGTTCACTCTGGTCCCTGTGCTGCTGGAGTTGTGGGAATCAAGA TGCTTCGTTATTTGAGATACGGTCAACACAGCCTCTAGGATGGAATCCAATGGCTGGCTCCCTTTT GAGAATTCAGTGAGTGGCTCCACCATAGCCATCCTGAAGAGAAGTGAAGTCCAGTTCTTTTATGAAGTG AGAGGAGAAACATACTTAAAGGGAAGAGGAAATGAGACTACCTACTGGCTGACTGGGATGAAGGACCAGA AATCAACCTGCCAACCCTCCTACTGTGGAGAATCAACAGCGTTTGCAAGCAGAATTTTCAGACATGAT TGCCAACTCTTTACAGAAAAGACAGGCAGCAGGGATAAGAAGCCAAAAACCCAGACGGGTAGCCAGCTAT AAAAAAGGCACCTCTGGAATACTTGCACTGAATACCACAGACAAGGAGAGCACCTATTTTTTAA</p>
#6	<p>ggggacactttgtatggcaagtggaaactggttgggtg gattttgttagattttttctgatttttaaaactcctgaaaaatatccagataaactgtcatgaagctggtaacta tcttcct gctggtgaccatcagcctttgtagttactctgctactgcc ttcctcatcaaaaagtgccttctcctgttgacaagttggcacctttacctctggacaacattcttccttta tggatcc attaagcttctctctgaaaactctgggcatttctgttgag caccttgtggaggggctaaggaagtgtgtaaatgagctgggaccagaggcttctgaagctgtgaagaaactgc tggaggc gctatcacacttgggtgtgacatcaagataaagagcggagg tggatggggatggaagatgatgctcctatcctcctgcctgaaacctgttctaccaattatagatcaaatgcc ctaaaaatgtagtgaaccgtgaaaaggacaataaagcaatgaatactaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaa</p>
#7	<p>ATGGCCGTGACTGCCTGTCAGGGCTTGGGGTTCGTGGTTTCACTGATTGGGATTGCGGGCATCATTGCTG CCACCTGCATGGACAGTGGAGCACCAAGACTTGTAACAACAACCCGTAACAGCTGTTTCAACTACCA GGGGCTGTGGCGCTCCTGTGTCCGAGAGAGCTCTGGCTTCAACGAGTGCCTGGGGCTACTTCAACCTGCTG GGGCTGCCAGCCATGCTGCAGGCAGTGCAGCCCTGATGATCGTAGGCATCGTCTGGGTGCCATTGGCC TCCTGGTATCCATCTTTGCCCTGAAATGCATCCGATTTGGCAGCATGGAGGACTCTGCCAAAGCCAACAT GACACTGACCTCCGGGATCATGTTTATTGTCTCAGGTCTTTGTGCAATTGCTGGAGTGTCTGTGTTTGGC AACATGCTGGTGACTAACTTCTGGATGTCCACAGCTAACATGTACACCGGCATGGTGGGATGGTGCAGA CTGTTTCAGACCAGGTACACATTTGGTGCAGCTCTGTTTCGTGGGCTGGGTGCTGGAGGCTCACACTAAT TGGGGGTGTGATGATGTGCATCGCCTGCCGGGGCTGGCACCAGAGAAGAACTACAAAGCCGTTTCT TATCATGCCCTCAGGCCACAGTGTTCCTACAAGCCTGGAGGCTTCAAGGCCAGCACTGGCTTTGGGTCCA ACACCAAAAACAAGAAGATATACGATGGAGGTGCCCGCACAGAGGACGAGGTACAATCTTATCCTTCCAA GCACGACTATGTGTAA</p>
#8	<p>tgcgccaccatggccgtgactgctgtcagggcttgggggttcgtggtttcactgattggg attgcgggcatcattgctgccacctgcatggaccagtggagcaccgaagacttgtacaac aaccctgtaacagctgttttcaactaccaggggctgtggcgctcctgtgtccgagagagc</p>
#9	<p>MNGTYNTCGSSDLTWPPAIKLGFIYALGVLLVLGLLLSLALWVFCCRMQOWTETRIYMT NLAVADLCLLCTLPFVLHSLRDTSDTFLCQLSQGIYLTNRYMSISLVTAIAVDTRYVAVRH PLRARGLRSPRQAAVCAVLWVLVIGSLVARWLLGIQEGGFCFRSTRHNFNSMRFPLLGF</p>

	YLPLAVVVFCSLKVVTALAQRPPTDVGQAEATRKAARMVWANLLVFVVCFLPLHVGLTVR LAVGWNACALLETIRRALYITTSKLSDANCCLDACYYMAKEFQEQASALAVAPRAKAHS QDSL CVTLA
#10	MTAGRSQERRAQEMGRGSVQGLDLKGDLEFFTAPMLSLRSEFVVGVSGLTSSHIPAQRWAEWGQCLAPPARS LLTSGSLCCPRTMNGTYNTCGSSDLTWPPAIKLGIFYAYLGVLLVLGL LLNSLALWVFCCRMQQWTTETRIYMTNLAVADLCLLCTLPFVLHSLRDTSDTFLCQLSQGI YLTNRYMSISLVTALAVDRYVAVRHPLRARGLRSPROAAVCAVLWVVLVIGSLVARWLLG IQEGGF CFRSTRHNFN SMAFLLG FYLPLAVVVFCSLKVVTALAQRPPTDVGQAEATRKA ARMVWANLLVFVVCFLPLHVGLTVRLAVGWNACALLETIRRALYITTSKLSDANCCLDAC YYMAKEFQEQASALAVAPS AKAHSQDSL CVTLA
#11	MKTLLLDLALWSLLFQPGWLSFSSQVSONCHNGSYEISVLMGNSAFAEPLKNLEDAVNEGLEIVRGRLO NAGLNVTVNATFMYSDGLIHNSGDCRSSTCEGLDLLRKISNAQRMGCVLIGPSCITYSTFQMYLDTLSYP MISAGSFGLS CDYKETLTRLMS PARKLMYFLVNFWKTNLDPFKTYSWSTS YVYKNGTETEDCFWYLNAL ASVS YFSHELGFKVVL RQDKEFQDILMDHNRKSNVIIMCGGPEFLYKLGDRVAEDIVII LVDLFNDQY LEDNVTAPDYMKNVVLVLTSPGNSLLNSSFSRNLSPTKRDFALAYLNGILLFGHMLKIFLENGENITTPK FAHA FRNLTFEGYDGPVTLDDWGDVDSTMVLLYTSVDTKKYKVLTYDTHVNKTYPVDMSPFTFWKNSKL PNDITGRGPQILMIAVFTLTGAVVLLLLVALLMLRKYRKDYELROKKWSHIPPENI FPLETNETNHVSLK IDDDKRRDTIQRLRQCKYDKKRVILKDLKHNDGNFTEKQKIELNKLLQIDYNNLTKFYGTVKLDTMI FGV IEY CERGLSREVLNDTISYPDGT FMDWEFKISVLYDIAGMSYLHSSKTEVHGRLKSTNCVVD SRMVVKI TDFGCNSILPPKKDLWTAPEHLRQANISQKGDVYSYGI IAEIILRKETFYTLSCRDRNEKIFRVENSNG MKPFRPDLFLETAEEKELEVYLLVKNCWEEDPEKRPDFKKIETTLAKIFGLFHDQKNESYMDTLIRRLQL YSRNLEHLVEERTQLYKAERDRADRLNFMLLPRLVVKSLKEKGFVEPELYEEVTIYFSDIVGFTTICKYS TPMEVVDMLNDIYKSFHDIVDHDVYKVTIGDAYMVASGLPKRNGNRHAIDIAKMALEILSFMGTFELEHL HLPGLPIWIRIGVHSGPCAAGVVGIMPRYCLFGDTVNTASRMESTGLPLRIHVSGSTIAILKRTECQFL YEV RGETYKGRGNETTYWLTGMKDQKFNLPPTVENQORLQAEFSDMIANSLOKROAAGIRSQKPRRV ASYKKG TLEYLQ LNTTDKESTYF*
#12	MKTLLLDLALWSLLFQPGWLSFSSQVSONCHNGSYEISVLMGNSAFAEPLKNLEDAVNEGLEIVRGRLO NAGLNVTVNATFMYSDGLIHNSGDCRSSTCEGLDLLRKISP*
#13	MKTLLLDLALWSLLFQPGWLSFSSQVSONCHNGSYEISVLMGNSAFAEPLKNLEDAVNEGLEIVRGRLO NAGLNVTVNATFMYSDGLIHNSGDCRSSTCEGLDLLRKISNAQRMGCVLIGPSCITYSTFQMYLDTLSYP MISAGSFGLS CDYKETLTRLMS PARKLMYFLVNFWKTNLDPFKTYSWSTS YVYKNGTETEDCFWYLNAL ASVS YFSHELGFKVVL RQDKEFQDILMDHNRKSNVTSTWRTMSQPLTI*
#14	MKTLLLDLALWSLLFQPGWLSFSSQVSONCHNGSYEISVLMGNSAFAEPLKNLEDAVNEGLEIVRGRLO NAGLNVTVNATFMYSDGLIHNSGDCRSSTCEGLDLLRKISNAQRMGCVLIGPSCITYSTFQMYLDTLSYP MISAGSFGLS CDYKETLTRLMS PARKLMYFLVNFWKTNLDPFKTYSWSTS YVYKNGTETEDCFWYLNAL ASVS YFSHELGFKVVL RQDKEFQDILMDHNRKSNVIIMCGGPEFLYKLGDRVAEDIVII LVDLFNDQY LEDNVTAPDYMKNVVLVLTSPGNSLLNSSFSRNLSPTKRDFALAYLNGILLFGHMLKIFLENGENITTPK FAHA FRNLTFEGYDGPVTLDDWGDVDSTMVLLYTSVDTKKYKVLTYDTHVNKTYPVDMSPFTFWKNSKL PNDITGRGPQILMIAVFTLTGAVVLLLLVALLMLRKYRKDYELROKKWSHIPPENI FPLETNETNHVSLK IDDDKRRDTIQRLRQCKYDKKRVILKDLKHNDGNFTEKQKIELNKIDYNNLTKFYGTVKLDTMI FGV IEY CERGLSREVLNDTISYPDGT FMDWEFKISVLYDIAGMSYLHSSKTEVHGRLKSTNCVVD SRMVVKI TDFGCNSILPPKKDLWTAPEHLRQANISQKGDVYSYGI IAEIILRKETFYTLSCRDRNEKIFRVENSNGMKP FRPDLFLETAEEKELEVYLLVKNCWEEDPEKRPDFKKIETTLAKIFGLFHDQKNESYMDTLIRRLQLYSR NLEHLVEERTQLYKAERDRADRLNFMLLPRLVVKSLKEKGFVEPELYEEVTIYFSDIVGFTTICKYSTPM EVVDMLNDIYKSFHDIVDHDVYKVTIGDAYMVASGLPKRNGNRHAIDIAKMALEILSFMGTFELEHL GLPIWIRIGVHSGPCAAGVVGIMPRYCLFGDTVNTASRMESTGLPLRIHVSGSTIAILKRTECQFLYEV RGETYKGRGNETTYWLTGMKDQKFNLPPTVENQORLQAEFSDMIANSLOKROAAGIRSQKPRRVASY KKG TLEYLQ LNTTDKESTYF*
#15	MKLVTIFLLVTISLCSYSATAKLINKCLPVDKLAPLPLDNLIPFMDPLK LLLKTLGISVEHLVEGLRKCVELGPEASEAVKKLLEALSHLV
#16	MAVTACQGLGFVVS LIGIAGIIAATCMDQWSTQDLYNNPVTA VENVYQGLWRS CVRESSGFT ECRGYFTLL

	GLPAMLQAVRALMIVGIVLGAIGLLVSI FALKCIRIGSMEDSAKANMTLTSGIMFIVSGLCAIAGVSVFA NMLVTNFWMSTANMYTGMGGMVQTVQTRYTFGAALFVGWVAGGLTLIGGVMMCIACRGLAPEETNYKAVS YHASGHSVAYKPGGFKASTGFGSNTKNKKIYDGGARTEDEVQSYPSKHDYV*
#17	DQWSTQDLYN
#18	NNPVTAVFNYQ
#19	MAVTACQGLGFVVSIGIAGIIAATCMDQWSTQDLYNNPVTAVFNYQ
#20	AGGTACATGAGCATCAGCCTG
#21	GCAGCAGTTGGCATCTGAGAG
#22	GCAATAGACATTGCCAAGATG
#23	AACGCTGTTGATTCTCCACAG
#24	GGATCCTCCTTTAGTTCCCAGGTGAGTCAGAAC
#25	TGCTCTGGAGGCTAGCGTTTC
#26	ACCAATCATGTTAGCCTCAAG
#27	AGCTATGGGATCATCGCACAG
#28	CCTTTGAGCTGGAGCATCTTC
#29	CTTTCTAGCTGGAGACATCAG
#30	CACCATGGTACTGTCAACATC
#31	ATGTCATACAAGACAGAGATC
#32	TCTGCCTTGACAGCTGTGTC
#33	TCTGTGGTATTGAGCTGCAAG
#34	TACTCAGGAAAATTTACCTTG
#35	GACCACAACAGGAAAAGCAATGTGACC

#36	GATAGAATTGAACAAGATTGAC
#37	CAGCCTTTGTAGTTACTCTGC
#38	TGTCACACCAAGTGTGATAGC
#39	GGTTCGTGGTTTCACTGATTGGGATTGC
#40	CGGCTTTGTAGTTGGTTTCTTCTGGTG
#41	<p>ctattgaagccacctgctcaggacaatgaaattcttcagttacattctggtttatcgccg  atctctcttcgtggttttcaactgtgtgtgttttactacctctgccatcgctcctccacac  caaggaagcagaatgtgcctacacactctttgtggtcgccacattttggctcacagaagc  attgcctctgtcggtaacagctttgtacactagtttaattgttaccatgtttgggatcat  gccttctaagaaggtggcatctgcttatttcaaggattttcacttactgctaattggagt  tatctgtttagcaacatccatagaaaaatggaatttgcaagagaattgctctgaaaat  ggtgatgatggttgggtgtaaatcctgtcgtggtgacgctggggttcagagcagcactgc  ctttttgtctatgtggctcagcaaacctcgacggctgccatggtgatgccattgctgga  ggctgtagtgcagcagatcatcaatgcagaagcagaggtcgaggccactcagatgactta  cttcaacggatcaaccaaccaaggactagaaattgatgaaagtgttaattggacatgaaat  aaatgagaggaaagagaaaaaaaaccagttccaggatacaataatgatacagggaat  ttcaagcaaggtggagttggaagaactcaggcatgagaaccaaataatcgaacaaagaa  ggccacgtgacacgtaaacttacgtgtttgtgcatctgctactcttctaccattggtgg  actgacaacaatcactggtacctccaccaacttgatctttgcagagtatttcaatacacg  ctatcctgactgtcgttgcctcaactttggatcatggtttacgttttcttcccagctgc  ccttatcattctactcttatcctggatctggttcagtggcttttcttaggattcaattt  taaggagatgttcaaatgtggcaaaaacaaaacagttccaaaagcttgtgctgaggt  gattaagcaagaaatacaaaagcttgggccaataaggatcaagaaattgtgacctgggt  cctcttcattataatggctctgctatggtttagtcgagacccggattgttctggttg  gtctgcactttttcagagtaacctggttttgctacagattcaactgttgcctttacttat  agggctgctattcttcttatcccagctaagacactgactaaaactacacctacaggaga  aattgttgcttttgattactctccactgattacttggaaagaattccagtcattcatgcc  ctgggatatagccattcttgttgggtggagggtttgcctggcagatggttgtgaggagtc  tggattatctcaagtggataggaataaattatctcctctgggttcattaccagcatggct  aataattctgatattcttcttgatggtgacatctttaactgaggtagccagcaatccagc  taccattacactcttctcccaatattatctccattggccgaagccattcatgtgaacc  tctttatattctgataccctctactctgtgtacttcatcttgcattcctcctaccagtagc  aaatccaccaatgctattgtcttttcatatggtcatctgaaagtcattgacatggttaa  agctggacttgggtgcaacattgttgggtgttgcgtggttatgcttggcatatgtacttg  gattgtaccatgtttgacctctacacttacccttctggtggctcctgctatgagtaatga  gaccatgccataataagcacaataattctgactatcttgcggttaatttctggaagacatt  aatgattgactgtaaaatgtggctctaaataactaatgacacacatttaaatcagttatg  gtgtagctgctgcaattcccggtgaatacccgaacctgctggtataactcagagtcata  ttgtttattgctcagtgcaactaaagagcatctatgtgccttcatcaagaagcccattgttt  gagattttgctcatgaaacatctgcaacttgcttcatcataagaataatttataacttga  ccttcaaagagatttagagcattttgttcatcttacagttggagttcaatgtaacatttta  aatgcaattttattatttcagaaatttcccatgaaactaaaaatagaaataagatatata  agttaaatcggtacttggataaatcatttctgcatgttgttccagagaatttgctgaga  aatcaaaagccatggtcatctggtgatgaagagaaaaggttaattctaaatgatattgtgat  ttcctcatttaaaaaatccaattggattattcttaatatatacatgtaatatgaaaattg  agattgaagcactaattccaaaattatggctgaatataactaaataacagaaaagttacag  ataagaattttatttctactgaaactctatagttagtgtaatataattcataatttttatgat  attggcacactgagaaattcattttgtagagctatggataaggcttgctatgatttgcac  tattagtacagtatagttagaaggaagctgaacactataaaactattaacatattttc  gtatagtagtaacaactttgcttaagtgtttatcttagttcagaaatacataatgtcata  tgttaaaaaataaagagatgtagaatctaaatgaattatcactgtgtatacagacagaaa  aatcacataactctggtgtgttaacattgcaatgaaaaaatgaaaaaagaaggaaaaaa  gaataagaatgaaaactgctgacgtattacaaaacagaaaaataaatgatttaaatcaa</p>

	atcaaaaagaaaaaaactaaacattttaacaaaaatgggataagaatagtcttctagaag tgaggatgctgtaaaagaatgagtttccaattaccctgatgtgacaattacacattgtaga caggtagcaaaatatcacatacacccccaaaaatatgtacaaatattatataatcaataaat aaatttttaaagagtaagtgtattggcattccaaaattcagctaaaggaaaaatgatca aaaacaaagtaagggtgcacagtttagcaaaagatgcagatgttatatcacagcaattctca tgctaaaaatacaacaaaaagacaaagcaaaaaataaacctttgcttttttttttttttt ttttttttttgagacggagtctcgtctctgtcgccaggctggagtgcagtgggcggtct cggctcactgcaagctccgctccaggttcacgccattctcctgcctcagccaaacctt tgctatttttaattcttctgttggtcattttccagctgttactgacctgtcattttttgttc aaataagattattttacaaacttattcttgaaactaaatatagtaaagggtttttaaaa taataatttaacatacgaattattaattggccatgttcattatttatctatgtttattaat gggccaatgcaaaaaatcattttttcaaagaaaaattgtccatgtaaagcttaaatat aatattgctgctttgtataactcttctatgtttattctattcatttgttctttccctac catattttacacatgtattttataatctgtagtattttattacatttctgctttttctagt cattcaatttatcactgctgaattgcatcagatcatggatgcattttttattatgaaaaaa taaaatgacttttcaaattaaaaaaaaaaaaaaaa
#42	caggacaatgaaattcttcagttacattctggtttatcgccgatttctcttcgtggttttcactgtgttggt ttactacctctgcccacgtcctccacaccaaggaagcagaatgtgcctacacactctttgtggtcgccacat tttggtcacagaagcattgcctctgtcggtaacagctttgctacctagttaatgttacccatgtttgggag catgccttctaagaagggtggcatctgcttatttcaaggattttcacttactgctaattggagttatctgttta gcaacatccatagaaaaatggaatttgcacaagagaattgtctgaaaaatggtgatggttggtgtaaatc ctgcatggctgacgctgggttcatgagcagcactgcctttttgtctatgtggtcagcaaacacctcgacggc tgccatggtgatgccattgagggtgtagtgcagcagatcatcaatgcagaagcagaggtcgaggccact cagatgacttacttcaacggatcaaccaaccaggactagaaattgatgaaagtgttaatggacatgaaataa atgagaggaaagagaaaaacaaaccagttccaggatacaataatgatacagggaaaaatttcaagcaagggtgga gttgaaaaagactgtttaactactgaaatgaagctatttctcctgactaaacataactgaaaaaccattcatta aatg
#43	gccactcagatgacttacttcaacggatcaaccaaccaggactagaaattgatgaaagtgttaatggacatg aaataaatgagaggaaagagaaaaacaaaccagttccaggatacaataatgatacagggaaaaatttcaagcaa ggtggagtggaaaaagcactggaaacttgagttcaagatggctccccatctccctctgtccattctgtatcg cagctagctgctcaaggaaaggagaaagtggaggcatatgtacttagaaattattctattactttcctggat ttaagatttcaagattttctatttcaacatcaaaacaattgcattttttaaaaagaaatttatgtgttccatgt caaatttagtagtgtgtggttgtttataatattttcttatatctacttaatttctatagttttatagttata tgtctttatttctaactttttctgtgcttttaagattattttaagattatttttaataatctttatttct atttaataaaaaattttattttaagtct
#44	cacggactagaaattgatgaaagtgttaatggacatgaaataaatgagaggaaagagaaaaacaaaccagttc caggatacaataatgatacagggaaaaatttcaagcaagggtggagttggaaaaagaactcaggcatgagaaacaa atatcgaaacaaagaagggccacgtgacacgtaaacttacgtgtttgtgcattgcctactcttctaccattggt ggactgacaacaatcactggtacctccaccaacttgatctttgcagagtatttcaatacattccatccacaca gaagaggagatcgtacaaggcatgtacaccaggaggcagaaatttgaggcatatcttggaactctgtctacca catcctgaacatcacacagtttccactctgttgccttcaatcctgagaatgcatccaggagccattctgttt tatgtcaattactaattagatcatgtcacgttactaacttactacgttccaattagtccttattgcatttgta ataaaatccgcatactttcggactggctacaaggttatacatgat
#45	MKFFSYILVYRRFLFVVFVTLVLLPLPIVLHTKEAECAYTLFVV ATFWLTEALPLSVTALLPSLMLEMF GIMPSKKVASAYFKDFHLLLI GVICLATSIEKW NLHKRIALKMVMVGVNPAWLT LGFMSSTAFLSMWLSNTSTAAMVMPIAEAVVQQIIN AEAEEVATQMTYFNGSTNHGLEI DESVNGHEINERKEKTKPVPGYNNDTGKISSKVEL EKN SGMRTKYRTRKKGHVTRKLTCLCIAYSSTIGGLTTITGTSTNLI FAEYFNTRY PDC RCLNFGSWFTSFPAALI ILLLSWIWLQWLFLGFNFKEMFKCGKTKTVQQKACAEVIK QEYQKLGPIRYQEIVTLVLF IIMALLWFSRDPGFVPGWSALFSEYPGFATDSTVALLI GLLFFLI PAKTLTKTPTTGEIVAFDYSPLITWKEFQSFMPWDIAILVGGGFALADGCE ESGLSKWIGNKLSPLGSLPAWLIILISSIMVTSLTEVASNPATITLFLPILSPLAEAI HVNPLYILIPSTLCTSFALLPVANPPNAIVFSYGHLLKVIDMVKAGLGVNIVGVAVVM LGICTWIVEMFDLYTYP SWAPAMSNETMP"





	CATTTATACTAAATGTATTCTGTAGGGGGCGATATACTAAATGTATTTAGACTTCCTGTAGGGGGCGATAA AATAAAATGCTAAACAACCTGGGTAAA
#52	AATTAAATATGAGAATTAAAAAGACAACATTGAGCAGAGATGAAAAAGGAAGGGAGGAAAAGGTGGAAAAGA AAAGAAGACAAGAAGCGAGTAGTGGTCTCTAACTTGCTCTTTGAAGGATGGTCTCACAAAGAGAACCCCAACA GACATCATCGTGGGAATCAAATCAAGACCAGCAAGTACACCGTGTGTCTTCCTCGTCCCCAAAAACATTTTTGA GCAGCTACACCGGTTTGCCAATCTCTATTTGTGGGCATTGCGGTTCTGAATTTATCCCTGTGGTCAATGCCT TTCCAGCCTGAGGTGAGCATGATACCAATCTGTGTTATCCTGGCAGTCACTGCCATCAAGGACGCTTGGGAAG ACCTCCGGAGGTACAAATCGGATAAAGTCATCAATAACCGAGAGTGCCTCATCTACAGCAGAAAAGAGCAGAC CTATGTGAGAAGTGTGGAAGGATGTGCGTGTGGGAGACTTCATCCAAATGAAATGCAATGAGATTGTCCCA GCAGACATACTCCTCCTTTTTCTCTGACCCCAATGGGATATGCCATCTGAAACTGCCAGCTTGGATGGAG AGACAAACCTCAAGCAAAGACGTGTGTAAGGGCTTCTCACAGCAGGAGGTACAGTTGCAACCAGAGCTTTT CCACAATACCATCGTGTGTGAGAAACCCAAACCAACCATCTCAACAAATTAAGGGTTATATGGAGCATCCTGAC CAGACCAGGACTGGCTTTGGCTGTGAGAGTCTTCTGCTTCGAGGCTGCACCATCAGAAACACCGAGATGGCTG TTGGCATTGTCTATGTCAGGCCATGAGACGAAAGCCATGCTGAACAACAGTGGCCCCCGGTACAAACGCAG CAAGATTGAGCGGCGCATGAATATAGACATCTTCTTCTGCAATTGGGATCCTCATCCTCATGTGCCTTATTGGA GCTGTAGGTACAGCATCTGGAATGGGACCTTTGAAGAACACCTCCCTTCGATGTGCCAGATGCCAATGGCA GCTTCTTCCAGTGCCCTTGGGGCTTCTACATGTTCTCACAATGATCATCTGCTCCAGGTGCTGATCCC CATCTCTTTGTATGTCTCCATTGAGCTGGTGAAGCTCGGGCAAGTGTCTTCTTTGAGCAATGACCTTGACCTG TATGATGAAGAGACCGATTTATCCATTCAATGTGAGCCCTCAACATCGCAGAGGACTTGGGCCAGATCCAGT ACATCTTCTCCGATAAGACGGGGACCTGACAGAGAACAAGATGGTGTTCGACGTTGCACCATCATGGGCAG CGAGTATTCTCACCAAGAAAATGGTATAGAAGCTCCCAAGGGCTCCATCCCTCTTTCTAAAAGGAAATACCCT GCTCTCCTAAGAAACGAGGAGATAAAAGACATCTCCTGGCTCTCTTAGAGGCTGTGTGGCATTTCACAAGT TGCTTCTCATCCCTGTGGTCTTCTTGTCTCAGCATCAGGGCTGTTCCAATTACTGTAAACTTTCAATTTGT TTACAAAGGTTAGAAGTTATCCCATATGTGGTTCCCTTCAGCTGATCTTTGTCTGGTGGCCAGCAAGGCACT TTATGAGACGAGTTTTTTATCTGTGAGCAATGGATTGGAGACATTTCCCAATTGTGTGCCAGTCACACAACCA AGGCTTAGGAATTTCTCAGGCCACCTTACCTGACATGTGAGGGCAGGTCTGTGTCTAGGTGCATGGTCAGATT TAATACATCCAGAAGATGTCTTCTATTCTAACAGATCTCTTAGCTTGTCACTGAGGCAAGTTTTGATTTAGG AGATAGGGCTATAAAATGCCGTGACTGTTACCTTGATGGACTGAATATGACTCATAAACTGATCTGATTCC TTCAGCCATCATCTGCCCAACTTGGTTCCCTCCCCACCCCAACACACACACACACTTTCTAAGAAAA GAAAAGAAATCTTTTTTTTCAATACTTTAAGTTCTGGGATACATGTGCAGAAATGTGCAGGTTTGTACATAG GTATACATGTGTGATGGTGGTTTGCAGCACCCACCAACCCATCATCTACCTTAGGTATTTCTCCTAATGCTAT CCCTCCCTAGCCCCCAACCCCCCGATGGGCTCCAGTGTGTGATGTTCCCTCCATGTCCATGTGTTCTCATT GTTCAATCCCACTTATGAGTGAGAACATGCAGTATTTGGTTTTCTGTTCTTGTGTTAGTTTGTCTGATGGTTT CCTGTTCACTCCGTGCTCCCTGCAAAGGACATGAACATCCTCTTTTTTATGGCTGCATAATATCCATGGTGAT ATGTGCCACATTTTCTTTATCCAGTCTATCGCTGATGGGCACTGGGGTTGGTTCCAAGTCTTTGCTATTGTGA ACAGTGTGCAATAAACTTACATGTGCATGTGTCTTTAGTAGAATGATTTATAATCCTTTGGGTATATACCCA GTAATGGGATGTGCTGGTCAAATGGTATTTCTGGTCTAGATCCTTGAGGAATCTTGTCTTCCACAATGGTTG AACTAATTTGTACTCCACCAACAGTGTAAGATTTCTGTTTCTCTACATCCTCTTCAGCATCTGTTGTGT CCTGACATTTTATGATCACTATTCTCACTGGCGTGAGATGTTATCTCATTGTGGTTTTGATTTGCATTTCTC TAATGACCAGTAATGATGAGCTTTTTTTCATATGTTTGTGGCTGCATAAATGTCTTTTGTAGAAGTGTCT GTTCATATCCTTCACCCATTTTTTTGAAGAAAACAACTCTTAAGAGAGCAGTATTCAATCTTTTGTGAGTGTGAG GGATGGAGAAAGAGAAAGATGGAGAGAGTATTATAAGCAGCTGTATCCCCTTGGCCATGGTGATAGCAGACCA TTCACATGGGAGCTTCTGGTCTCTTTGTAATAATAAAGAGCCACATTACCAGTACTTAGAGTATGCTAGTT ATTTTAACACATTGTATCATTAATCTTCAAAACATCCCTATGAGTTAGAAACCTAAAAAAAAAAAAAAAAA A
#53	CTCATTTTGTGCTAGAAATCAGGGGATCCAGGATCATCACCAGGTCAATTTCCAGGTATGGAGGGTCTT TCTGCTTCTTTCTTGTGTCACAGCTGCTGAGGAAGGGGCTGGGAGTAAAGACAGTGAAATGGGGAGGAGGA GTCCATTCAAACCGAGAAACAAAGTGTGGTTTTCTTACCCCTGGTGTAGAAGCTACCAACCTTTTCCAAG AAAGAGGGCTGGCCCCCTTCTCGGGTCTGGCTGGGTGCTGTGCTCTCTGGCTCCCTCCGAAGGGC ACCATTCCCTCGGGTGAGTACTACCGCCTGCACCGTCTTCCAGTGGGGACAGCCTGAGAAGAGAGTCTGGGG CCTTACTTCAGTACCTTCCCTCACTGGCCTCACCTGTGCAAATCATGCCACAGCTGCAGCCTCTTTTCCC TATCTATAAAATAAAAAATGACCCTGCTCTATCTCACTGGGCTGGCAAGAACACACTGTTGTTGCTTGCAGAC AGATGTGCTGAGGCTGTAGAAAGTGTCTTTTATTTGGTTGGGAGCTTGTGCATAAATGCCAGAGGGGCTGCAC ATCTGACGGACTAGAGGTGACTCATGGCTGAACCGGAACAGGACATCGGGGAGAAGCCAGCAGCCATGCTGAA CTCTCCACAGGGCCCTGTGAAAAGCTCTTCACTCCTCTGCCCTCTGGATCTAGTGAAGCCTATTCTCCTTCT AGATGTGAGCTCAAATAATCAACCTTTCATGGAGGCTCCCTTGACCCCTAACATGCTTTCAAGTACTGTGTA TTTCACATTCTATGCCCCGACAACGTGATTTCCCATTTATTAATATCTGTCTCTTCTGCTGGCCTGCAAA CTCCAGGAGCACAGAGACATCTTTGGGATTTTTGAACATGATTTCCCCAGGGCTTAGCCAGTGCCTGGTGCA AAGCAGGCTTTCAACATGTTCAAGTGGATATTGTAAGAAAGAAAGAAATACACAAAAGGCCTGGCATATGCAAA GCACTCTAAATATTCACTCCTTTCCCTTCCCTCTGGGTGAGAAAATTTCTCCTTATAAAGACACCCCTCCTAAC TGATCTCTGCTAGAGAACTGAAGACATAAAGCACTCTGTGCCAAAATATTTAAGTAAAACTTGAGCTAAG CACAGAGATTATAAATATTTCTTCCCAGATTACGCACCATTTAAAAATACTGTCTCAGCTCCTTTTCATGAT

	TTGGGTGGTGATTAAAGAAAATTACTCTTCAAGACTGAAAGTCATTACTGCCCTTTTCTGACTTGCCTTTTC CCTTGAGAAGGGGAGGATAAGCTGCAGGGCAGGAAGTGGAAAGTGGGGCATCCTTGTCTTTTGTCTGGCAGACA GCCAACTGGTCAGGTACTGCTCCTTCTCAACTCTTTCCTGATTCCAGGTGAATATAAACAAGAAGGCACAAA TCCACACTTGGCAACAACGGACCCCAAGTGATAACAAGAAACCCAGTGACACCTGTCTAGGTGAAGACTCAGCC CCTATGTGACCAGGTTGCAAAGCCAACTGACCATCTGCTTTCATTGGAATTTAGTTTACTACTGTATCTT CTCAGGACAGTTAAGTTGGAATACAATGCCACTGTCTGAAAGATGGTAGAATTATCCTATTTCTGGAGGAGT GGGGGTGGTGGGTAGGAATCTCAAGAGCGATTTGCTCCTCTGCACAATAGCTTCTTTAAGGACACCAGGGCCC CCAGGGCTATACATTTCCCTGAAGCTTTCAGATAAGCAACAAGGTATGAGCACCTGCTATGTATTGCCAAG GGTGATGTGTTTAAATATCCATTGCATATTTTAAATCCTTGGCTGGCTTAAAGCTGCAAGCTTTCTGTCTTCA GTGGATATAATGGGGGCATACATCCAGAGCTTGGCCAACTCCAAGAAAAGAACCCCTCAGCTAATGCAAAG TGTGTATGTGCCCATGAAAGCTCCATGTCTACTTAACATTGAGTTTTAGGATTATTTATGCTGTAATAATAG ATATGAAATCTCTGACAGGTATTTTGTTCCTTTACAACTGTATTTGAATTTATGGGTGATTTAGAGCTTG TGTTTAAAGTCAGAATTCAGAACCCCAAAGAAAATGACTTCATTGAAATTTGAAGTGAAGAGACAAGAAGTGA TTACCAAAACCTACTAAACGTGAGTTGCTGTGAAGTGGGGATTAAACCAGAACGAGTGGAGAAGATCAGAAAG CTACCAAAACACACTGCTCAGAAAGGACAAAGACATTGGAAGCTGCGGGACTTTCAGGAAGTGGAACTCATTT TAATGAAAAATGGAAGCTCCAGATTGACAGAATTGTGCCATCTCTGACAGAAAGGCCCTGCTATGATAGCAA AGCTGCAAAAATGACTTATTAATACTCCAGGAATGGCCGCGCATGGTGGCTCACCCCTGTATATCCAGCA CTTTGGGAAGCCAAGGTGGGCGGATCACCTGAGGTGAGGAGTTCTAGACCAGCCTGGCCAACATATAGTGAAA CCCAGTCTCTACTAAAAAAATACAAAAATTAGCTAGGTGTGGTGGCGCACACCTGTAGTAGTCCAGCTACA TGGGAAGCTGAGGCAGGAGAATCACCTGAACCCAGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGCTGAGATTGCGCCACTGC ACTCCAGCCTGGCGACAGAGCAAGACTCTGTCTCTCAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAAT AATC
#54	GCCCGGGAGAGGAGAGGAGCGGGCCGAGGACTCCAGCGTGCCAGGTCTGGCATCCTGCACTTGCTGCCCTCT GACACCTGGGAAGATGGCCGGCCCGTGGACCTTCAACCTTCTCTGTGGTTTGTGGCAGCCACCTTGATCCAA GCCACCTCAGTCCCACTGCAGTTCTCATCCTCGGCCCAAAGTCATCAAAGAAAAGCTGACACAGGAGCTGA AGGACCACAACGCCACCAGCATCCTGCAGCAGCTGCCGCTGCTCAGTGCCATGCGGGAAAAGCCAGCCGGAGG CATCCTGTGCTGGGCGAGCCTGGTGAACACCGCTCCTGAAGCACATCATCTGGCTGAAGGTGCAAGCTAAC ATCCTCCAGCTGCAGGTGAAGCCCTCGGCCAATGACCAGGAGCTGCTAGTCAAGATCCCCCTGGACATGGTGG CTGGATTCAACACGCCCCCTGGTCAAGACCATCGTGGAGTTCCACATGACGACTGAGGCCCAAGCCACCATCCG CATGGACACCAGTGCAAGTGGCCCCACCCGCTGGTCTCAGTGACTGTGCCACCAGCCATGGGAGCCTGCGC ATCCAACCTGCTGCATAAGCTCTCCTTCTGGTGAACGCTTAGCTAAGCAGGTGATGAACCTCCTAGTGCCAT CCCTGCCAATCTAGTGAAAAACCAAGCTGTGTCCTGATCGAGGCTTCTTCAATGGCATGTGTCAGACCT CCTGCAGCTGGTGAAGGTGCCATTTCCCTCAGCATTGACCGTCTGGAGTTTGACCTTCTGTATCCTGCCATC AAGGGTGACACCATTAGCTCTACCTGGGGGCCAAGTTGTTGGACTCACAGGGAAAGGTGACCAAGTGGTTCA ATAACTCTGCAGCTTCCCTGACAATGCCACCTGGACAACATCCCGTTGAGCCTCATCGTGAGTCAGGACGT GGTGAAGCTGCAGTGGCTGCTGTGCTCTCTCCAGAAGAATTCATGGTCTGTTGGACTCTGTGCTTCTCTGAG AGTGGCCATCGGCTGAAGTCAAGCATCGGGCTGATCAATGAAAGGCTGCAGATAAGCTGGGATCTACCCAGA TCGTGAAGATCTTAAGTCAAGCACTCCCGAGTTTTTTATAGACCAAGGCCATGCCAAGGTGGCCCCAAGTGA CGTGCTGGAAGTGTTCCTCCAGTGAAGCCCTCCGCCCTTTGTTTACCCTGGGCATCGAAGCCAGCTCGGAA GCTCAGTTTTACACCAAGGTGACCAACTTATACTCAACTGAATAACATCAGCTCTGATCGGATCCAGCTGA TGAACCTCTGGGATTGGCTGGTTCCAACCTGATGTTCTGAAAAACATCATCACTGAGATCATCCACTCCATCCT GCTGCCGAACCAGAATGGCAAATTAAGATCTGGGGTCCCAGTGTGATTGGTGAAGGCCCTGGGATTGAGGCA GCTGAGTCTCTCACTGACCAAGGATGCCCTTGTGCTTACTCCAGCCTCCTTGTGGAACCCAGCTCTCCTGTCT CCCAGTGAAGACTTGGATGGCAGCCATCAGGGAAGGCTGGGTCCCAGCTGGGAGTATGGGTGTGAGCTCTATA GACCATCCCTCTCTGCAATCAATAAACACTTGCTGTGAT
#55	GGAGTGGGGGAGAGAGAGGAGACCAGGACAGCTGCTGAGACCTCTAAGAAGTCCAGATACTAAGAGCAAAGAT GTTTCAAACCTGGGGCCCTCATTGTCTTACGGGCTGTTAGCCAGACCATGGCCAGTTTGGAGGCCCTGCC GTGCCCTGGACAGACCTGCCCCCTGAATGTGAATCCAGCCCTGCCCTTGAGTCCACAGGTCTTGCAAGAA GCTTGACAAATGCCCTCAGCAATGGCCTGCTGTCTGGGGCCCTGTTGGGCATTCTGGAAAACCTTCGCTCCT GGACATCCTGAAGCTGGAGGAGGTACTTCTGGTGGCTCCTTGGGGGACTGCTTGGAAAAGTGACGTGAGTG ATTCCTGGCCTGAACAACATCATTTGACATAAAGTCACTGACCCCAAGCTGCTGGAACCTTGGCCTTGTGAGA GCCCTGATGGCCACCGTCTCTATGTCAACATCCCTCTCGGCATAAAGCTCCAAGTGAATACGCCCTTGGTGG TGCAAGTCTGTTGAGGCTGGCTGTGAAGCTGGACATCACTGCAGAAATCTTAGCTGTGAGAGATAAGCAGGAG AGGATCCACCTGGTCTTGGTGAAGTGCACCCATTCCCTGGAAGCCTGCAATTTCTCTGCTTGATGGACTTG GCCCCCTCCCCATTCAAGGTCTTCTGGACAGCCTCACAGGATCTTGAATAAAGTCTGCTGAGTTGGTTCA GGGCAACGTGTGCCCTCTGGTCAATGAGGTTCTCAGAGGCTTGGACATCACCTGGTGCATGACATTGTTAAC ATGCTGATCCACGGACTACAGTTTGTCAATCAAGGTCTAAGCCTTCCAGGAAGGGGCTGGCCTCTGCTGAGCTG CTTCCCAGTGCTCACAGATGGCTGGCCATGTGCTGGAAGATGACACAGTTGCTTCTCCGAGGAACCTGC CCCCCTCTCTTCCCAAGGCGTGTGAACATCCCATGTGCTCACCTAATAAATGGCTCTTCTTCTGCAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA



	<p>GGGAGAGATCTGCCACATGTCTGAGGGTTGCAGAGAGCCCGCTGTGGAGGTAAGATTGAAACACACATGAGGCAGA  GGGAAGACATTGAAGAAAACATCTCTGCTGGAATATTTGGAAAAGAACACTCTTCTGGACCTGGTTGAAGCAG  GAAAGATGGAGGCAAAGTAGTGAAATAATCCAGAATTTCAATGCTTTTGAATGTTCTTAGTGATACTGACCTG  TGATAATATAATTCCAGGGGAGGACTGGGAACCTTATCTCTTGAGATATTTGCATAATTTATTTAATTTAAGC  CTCATCTCCTTTTGTTCATTTTGGTAATAAACTGGATTGAATTGTGAACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA</p>
#57	<p>AATGCTCTAAGACCTCTCAGCACGGGGCGGAAGAACTCCCGGAGAGCTCACCACAAAAACAAGGAGATCCCAT  CTAGATTTCTTCTTCTGCTTTTACTCACAGCTGGAAGTTAGAAAAGCCTCGATTTTCATCTTTGGAGAGGCCAAA  TGGTCTTAGCCTCAGTCTCTGTCTCTAAATATTTCCACCATAAAAACAGCTGAGTTATTTATGAATTAGAGGCTA  TAGCTCACATTTTCAATCCTCTATTTCTTTTTTAAATATAACTTTCTACTCTGATGAGAGAATGTGGTTTTTA  ATCTCTCTCTCACATTTTGTATGATTTAGACAGACTCCCCCTCTTCTCTAGTCAATAACCCATTGATGATC  TATTTCCAGCTTATCCCCAAGAAAACTTTGTAAAGGAAAGAGTAGACCCAAAGATGTTATTTTCTGCTGTTT  GAATTTTGTCTCCCCACCCCAACTTTGGCTAGTAATAAACACTTACTGAAGAAGAAGCAATAAGAGAAAGATA  TTTGTAATCTCTCCAGCCCATGATCTCGGTTTTCTTACACTGTGATCTTAAAGTTACCAAACCAAAGTCATT  TTCAGTTTGGAGCAACCAAACCTTTCTACTGCTGTTGACATCTTCTTATTACAGCAACACCATTCTAGGAGTT  TCCTGAGCTCTCCACTGGAGTCTCTTTCTGTGCGGGGTGAGAAATTGTCCCTAGATGAATGAGAAAATTAT  TTTTTTAATTTAAGTCTTAAATATAGTTAAATAAATAATGTTTTAGTAAATGATACACTATCTCTGTGAAA  TAGCCTCACCCCTACATGTGGATAGAAGGAAATGAAAAATAATTGCTTTGACATTGTCTATATGGTACTTTG  TAAAGTCATGCTTAAGTACAAATTCATGAAAAGCTCACTGATCCTAATTCTTTCCCTTTGAGGTCTCTATGG  CTCTGATTGTACATGATAGTAAGTGTAGCCATGTAAAAAGTAAATAATGTCTGGGCACAGTGGCTCACGCCCT  GTAATCCTAGCACTTTGGGAGGCTGAGGAGGAAGGATCACTTGAGCCGAGAAGTTTCGAGACTAGCCTGGGCAA  CATGGAGAAGCCCTGTCTCTACAAATACAGAGAGGAAATAACAGCCAGTCATGGTGGCATAACCTGTAGTC  CCAGCATTCGGGGAGGCTGAGGTGGGAGGATCACTTGAGCCAGGAGGTTGGGCTGCAGTGAGCCATGATC  ACACCCTGCACTCCAGCCAGGTGACATAGCGAGATCCTGTCTAAAAAATAAAAAATAAATAATGGAACACA  GCAAGTCCTAGGAAGTAGGTTAAACTAATTCTTTAAAAAATAAAAAAGTTGAGCCTGAATTAAATGTAATG  TTTCCAAGTGACAGGTATCCACATTTGTCATGGTTACAAGCCACTGCCAGTTGGCAGTAGCACTTTTCTGGCAC  TGTGGTCGGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTGAAGACGGGGTCTCACTTTCCAGGCTGGCCTCAAACCTCTG  CACTCAAGCAATTTCTTCTACCCTGGCCTCCCAAGTAGCTTGGAAATACAGGTGTGGCCATCAACAAGTCTGG  TGGTCAGTTTTGTTACTCTGAGAGCTGTTCACTTCTCTGAATTCACCTAGAGTGGTTGGACCATCAGATGTTT  GGGCAAACTGAAAGCTCTTTGCAACCACACACCTTCCCTGAGCTTACATCACTGCCCTTTTGAAGCAAAAGT  CTAAATTCCTTCCAAGACAGTAGAATTCATCCAGTACCAAAGCCAGATAGGCCCTTAGGAAACTGAGGTA  AGAGCAGTCTCTAAAAACTACCCACAGCAGCATTTGGTGCGGGGAACTTGGCCATTAGGTTATTATTGAGAG  GAAAGTCCTCATCAATAGTACATATGAAAGTGACCTCAAGGGGATTTGGTGAATCTATAAGGATCTTCA  GGCTGAACAGACTATGTCTGGGGAAGAACGGATTATGCCCATTAATAACAAGTTGTGTTCAAGAGTCAGA  GCAGTGAGCTCAGAGGCCCTTCTCACTGAGACAGCAACATTTAAACCAAACCAGAGGAAGTATTTGTGGAAC  CACTGCCTCAGTTTGGGTAAAGGATGAGCAGACAAGTCAACTAAAGAAAAAAGAAAAGCAAGGAGGAGGGTTG  AGCAATCTAGAGCATGGAGTTTGTAAAGTGCTCTCTGGATTGAGTTGAAGAGCATCCATTGTAGTTGAAGGC  CAGAGGCAACATGAGCTCTCCCTTACACCAGAAAGTCCCTGGTCAGGTCCTCAGTGTGCGGTGTGGCT  CAGCTGGGTTTTTAATTAGCGCATTTCTCTATCCAACATTTAATTGTTTGAAGCCCTCATATAGTTAGATTGT  GCTTTGTAATTTTGTGTTGTTGCTCTATCTATTGTATATGCATTGAGTATTAACCTGAATGTTTTGTTACT  TAAATATTAAAAACACTGTTATCTACAAAAAACCTCAAAGGCTGAAATAAAGAGGAAGATGGAGACAC  CCTCTGGGGGTCTCTC</p>
#58	<p>CTTTGCACTGGATGCCCTTGGCAGGGTGAGCCACAAGGAGCAATGGAGCAGGGCAGCGGCCGCTTGGAGGAC  TTCCTGTCAATGTGTTCTCGGTCACTCCTTACACACCCAGCACCGCTGACATCCAGTGTCCGATGATGACA  AGGCGGGGGGCCACCTTGCTCTTCTCAGGCATCTTTCTGGGACTGGTGGGGATCACATCTACTGTCTGATGGGCTG  GATCAAATACCAAGGTGTCTCCCACTTTGAATGGACCCAGCTCCTTGGGCCGCTCTGCTGTCAGTTGGGGTG  ACATTCATCCTGATGCTGTGTGCAAGTTCAAATGCTCTCTCCGAGTTGTGCAAGAAAGTGAAGAAAGG  TCCCGGACTCGGAACAGACACCAGGAGGACCATCATTTGTTTTCACTGGCATCAACCAACCCATCACTTTCCA  TGGGGCCACTGTGGTGCAGTACATCCCTCCTCTTATGGTTCTCCAGAGCCTATGGGGATAAATACCAGCTAC  CTGAGTCTGTGGTGAGCCCTGCGGCCTCATAACCTCTGGAGGGGAGCAGCGGCCATGTCAAGTCTCCTC  AATACTACACCATCTACCTTCAAGATAACTCTGCATTTGTGGTTGATGAGGGCTGCCCTTCTTTACGGACGG  TGAAGATCAAGGGCCAAATCCTGATGTTGACCAGCTAGAAGAGACAGCTGGAAGAGGAGGCTGTGCCTGC  TTCTCTCCTCCCCCTTATGAAGAAATATACTCTCCTCTCGCTAGAGGCTATTCTGATATAATAACACAAATGC  TCAGCTCAGGGAGCAAGTGTTCGGTCATTGTTACCTGACAACCGTGGTGTCTATGTTGTAACCTTCAGAAG  TTACAGCAGCGCCAGGAGCCTGACAGAGATCATTCAAGGGGGAAAGGGGAAGTGGGAGGTGCAATTTCTC  AGATTGGTAAAAATTAGCTGGGCTGGGGAAATTTCTCTCCGGAACAGTTTCAAATTCCTCAGGTAAGAAAT  CTCTGTATAAGGTTTCAAGGAGCAAGTTTCACTTTTTATCCACCACTCTCTCTCTCTCTGTAGGAAGGCA  TTGGTGGCTCAATTTTAAACCCAGCAGCAATGGAAATAACAGACTCTGAGACTTTGGGATTTTCCACAGA  GGTGAGAGTCGGGTGGGAAGGAGCAGGGAAGAGAAAGCAGGCCAGCTGGAGATTTCTGTTGGCTGTCTCT</p>

	GGCCCCAAAGCAGACTCACTAATCCCAACAACCTCAGCTGCCATCTGGCCTCTCTGAGGACTCTGGGTACCTTAAAGACTATA
#59	CAGGAAAGTTCGTGCTGCTAGGCAGAGGAAGTGCAGCTTGTGGCAGGTGAAGGGAGCCTGTTTAGCTGTGTC CAGCAACAACCTTACGTGGTCTGCTTGTGTTCCAGGTGAAGCGTCTGGCCGCCGAGCAGAGGAATCAAGACCT GCTCATCTCTTCTCGGGGGATCCATCCAGCAATGACATCATCTCATGCTGCCACAAGGACCCCAAGTCTGGG CTGCTGGGGACCAGCCACGCTCCCCACTGCTCATTCCTTCATCCTAGAGACATTCTGACTCTCCTCCGACTGC GCTGTGCACAGGCGTGACAAGCTCTTTTACATCTCAGTCTGCACAACCTCAGGCACCTTAGCAGATTGATATGC ATCCAACAAATATTGATTGAATATCTGCTAAATACCCAGTAATGTTTCATGAGTGATTGGGTGAATAAAGGAA TGCTGGTTCCTTCTGGCCATATTAACCTCTGCACAATACTAAGAAAAATAAATTGCACTAGCTGTGGAATAAT GTGAATCCCAATGTCATCTATTGAATATTACCTGACTATTAAGAGGTATTTATTTTGTATCTTTTCTAGCA AAGTAAATAAAATTCTAATACAGCATATCCCTTATTACGGGGGGTATGTTCCAAGACCCCCGGTGGATGC CTGAAACTATGGATAATACCAGATCC
#60	MGPFKSSVFILILHLEGALSNLSLIQLNNNGYEGIVVAIDPNVPEDETLIQQIKDMVTQASLYLFEATGKRFY FKNVAILIPETWTKADYVRPKLETYKNADVLVAESTPPGNDEPHYTEQMGNCGEKGERIHLTPDFIAGKKLAE YGPQKAFVHEWAHLRWGVFDEYNNDKIFYLSNGRIQAVRCSAGITGTNVVKKCQGGSCYTKRCTFNKVTGLY EKGEFVLQSRQTEKASIMFAQHVDSDIVEFCTEQNNHKEAPNKQNKCNLRSTWEVIRDSDFKKTTPMTTQP PNPTFSLLOIGQRIVCLVLDKSGSMATGNRLNRLNQAQQLFLLQTVELGSWVGMVTFDSAAHVQSELIQINS SDRDTLAKRLPAAASGGTSCSGLRSAFTVIRKKYPTDGSEIVLLTDGEDNTISGCFNEVKQSGAIHTVALG PSAAQEELELSKMTGGQLTYASDQVQNNGLIDAFGALSSNGAVSQRSIQLESKGLTLQNSQWMNGTVIVDST VGKDTLFLITWTTQPPQILLWDPGSGQKQGGFVVDKNTKMAYLQIPGIKAVGTWKYSLOASSQTTLTIVTSRAS NATLPPITVTSTKNKDTSKFSPPLVYANIRQGASPIILRASVTALIESVNGKTVTLELLDNGAGADATKDDGV YSRYFTTYDTNGRYSVKVRALGGVN AARRRVIPOQSGALYIPGWIENDEIQWNPFRPEINKDDVQHKQVCFSSRTSSGGSFVASDVPNAPIPLDFPPGQ ITDLKAEIHGGSLINLTWTFPGDDYDHGTAHKYIIRISTSLDLRDKFNESLQVNTTALIPKEANSEEVFLFK PENITFENGTDLFIAIQAQVDKVDLKSEISNIARVSLFIPPQTPPETSPDETSAPCPNIHINSTIPGIHILKI MWWKIGELQLSIA
#61	MKKEGRKRWRKEDKKRVVSNLLFEGWSHKENPNRHRGNQIKTSKYTVLSFVPKNIFEQLHREFANLYFVGI AVLNFIPVNAFQPEVSMIPICVILAVTAIKDAWEDLRRYKSDKVINNRECLIYSRKEQTYVQKWKDVRVGD FIQMKCNEIVPADILLFSSDENGICHLETASLDGETNLKQRRVVKGFSQOEVOFEPELFHNTIVCEKPNHL NKFKGMEHPDQTRTGFCESLLLRGCTIRNTEMAVGIVYAGHETKAMLNNSGPRYKRSKIERRMNIIDIFFC IGILILMCLIGAGHSIWNGTFFEHPPFDVPDANGSFLPSALGGFYMFLTMIILLQVLIPIISLYVSIELVKLG QVFFLSNDLDLYDEETDLSIQCRALNIAEDLGQIQYIFSDKTGTLTENKMFRRCTIMGEYSHQENGIEAPK GSIPLSKRKYPALLRNEEIKDILLALLEAVWHFHKLPLVSLWSSLSQIRAVPITCKLSFVYKG
#62	MGRRSFPKPRNKVFGFSYPWCRSYQFFPRKRAWPPSRVWLGAACASLASPPKGTIPSGEYYPAPSSSGDSL RESGALLQYLPSLASPCANHATRCSLFFPIYKIKMTLLYLTLGLARTHCCCLADRC AEAVESAFYLVGSLCINA RGAHLTD
#63	MAGPWTFTLLCGLLAATLIQATLSPTAVLILGPKVIEKLTQELKDNATSILQQLPLLSAMREKPPAGGIPVL GSLVNTVLKHIIWLKVITANILQLQVKPSANDQELLYKIPLDMVAGENTPLVKTIVEFHMTTEAQATIRMDTS ASGPTRLVLSDCATSHGSLRIQLLHKLSFLVNALAKQVMNLLVPSLPNLVKNQLCPVIEASFNGMYADLLQLV KVPISLSIDRLEFDLLYPKIGDTIQLYLGAKLLDSQGVTKWFNNSAASLTMPITLDNIPFSLIVSQDVVAAA VAAVLSPEEFMVLLDSVLPESAHLKSSIGLINEKAADKLGSTQIVKILTQDTPPEFFIDQGHAKVAQLIVLEV FPSSEALRPLFTLGIEASSEAQFYTKGDQILINLNNISSDRIQLMNSGIGWGFQPDVLKNIITEIHSILLPNQ NGKLRSQVFPVSLVKALGFEEAESSITKDALVLTASLWKPSSPVSQ
#64	MFQTGGGLIVFYGLLAQTMAQFGGLPVPLDQTLPLNVNPAALPLSPTGLAGSLTNALSNGLLSGGLLGILENPL LDILKPGGGTSGLLGGLLGKVTSVIPGLNNIIDIKVTDQQLLELGLVQSPDGHRLVYVTPGLGIKLQVNTPLV GASLLRLAVKLDITAEILAVRDKQERIHVLGDCTHSPGSLQISLLDGLGLPIQGLLDSLTGILNKVLPPELV QGNVCPVNEVLRGLDITLVHDIWNMLIHGLQFVIKV
#65	MSQPRPRYVVDRAAYSLLTFDDEFKDRTPYVGEKLRNAFRCSAKIKAVVFGLLPVLVSWLPKYKIKDYIIP DLLGGLSGGSIQVPQGMFAFALLANLPAVNGLYSSFFPLLYFFLGGVHQMPGTFAVISILVGNICLQLAPES KFQVFNNATNESYVDTAAMEAERLHVSATLACITAIQMGGLGFMQFGFVAIYLSSESFIRGFMTAAGLQILISV

	LKYIFGLTIPSYTGPGSIVFTFIDICKNLPHTNIASLIFALISGAFLVLVKELNARYMHKIRFPIPTMIVV VATAISGGCKMPKKYHMQIVGEIQRGFPTPVSPVVSQWKDMIGTAFSLAIVSYVINLAMGRTLANKHGYDVDS NQEMIALGCSNFFGSFFKIHVICCALSVTLLAVDGAGGKSQVASLCVSLVVMITMLVLGIYLYPLPKSVLGALI AVNLKNSLKLQLTDPYYLWRKSKLDCCIWVVSFLSSFFLSLPYGVAVGVAFSVLVVVFTQFRNGYALAQVMDT DIYVNPRTYNRAQDIQGIKIITYCSPLYFANSEIFRQKVIKTGMDPQKVLLAKQKYLKKQEKRRMRPTQORR SLEMKTKTVSLQELQDDFENAPPTDPNNNQTPANGTSVSYITFSPDSSSPAQSEPPASAEAPGEPDMLASVP PFVTFHTLILDMSGVSFVDLMGIKA LAKLSSTYKGIGVKVFLVNIHAQVYNDISHGGVFEDGSLECKHVFPSTIHDAVLFAQANARDVTPGHNFGGAPG DAELSLYDSEEDIRS YWDLEQEMFGSMFHAETLTAL
#66	MEQSGSRLEDFPVNVFSVTPYTPSTADIQVSDDDKAGATLLESGIFLGLVGITFTVMGWI KYQGVSHFEWTQL LGPVLLSVGVTFILIAVCKFKMLSCQLCKESEERVDPSEQT PGGPSFVFTGINQIPITFHGATVVQYIPPPYGS PEPMGINTSYLQSVVSPCGLITSGGAAAAMSSPPQYTYTYPQDNFAFVVDEGCLSFDTGGNHRPNPDVDQLEE TQLEEEACACFSPPPYEEIYSLPR
#67	ACACGAATGGTAGATACAGTG
#68	ATACTTGTGAGCTGTTCCATG
#69	ACTGTTACCTTG CATGGACTG
#70	CAATGAGAACACATGGACATG
#71	CCATGAAAGCTCCATGTCTAC
#72	AGAGATGGCACATATTCGTGTC
#73	ATCGGCTGAAGTCAAGCATCG
#74	TGGTCAGTGAGGACTCAGCTG
#75	TTTCTCTGCTTGATGCACTTG
#76	GTGAGCACTGGGAAGCAGCTC
#77	GGCAAATGCTAGAGACGTGAC
#78	AGGTGTCCTTCAGCTGCCAAG
#79	GTTAAGTGCTCTCTGGATTG
#80	ATCCTGATTGCTGTGTGCAAG
#81	CTCTTCTAGCTGGTCAACATC
#82	CCAGCAACAACCTTACGTGGTC
#83	CCTTTATTACCCAATCACTC
#84	agaacagcgcagtttgccctccgctcacgcagagcctctccgtggcctccgcaccttgag cattaggccagttctcctctctctctctaatccatccgtcacctctcctgtcatccgtttc catgccgtgaggtccattcacagaacacatccatggctctcatgctcagtttggtctga gtctcctcaagctgggatcagggcagtggtgtttgggccagacaagcctgtccagg ccttggtgggggaggacgcagcattctcctgtttcctgtctcctaagaccaatgcagagg ccatggaagtgcggttcttcaggggagcagttctctagcgtggtccaacctctacagggacg



	<p>ggaaggaccagccatttatgcagatgccacagtatcaaggcaggacaaaactggtgaagg  attctattgcgaggggcgcatctctctgaggctggaaaaattactgtgttgatgctg  gcctctatgggtgcaggattagttcccagtcctactaccagaaggccatctgggagctac  aggtgtcagcactgggctcagttcctctcatttccatcacgggatattgtgatagagaca  tccagctactctgtcagtcctcgggctggttccccgggccacagcgaagtggaaaggtc  cacaaggacaggatttgtccacagactccaggacaaacagagacatgcatggcctgtttg  atgtggagatctctctgaccgtccaagagaacgcggggagcatatcctgttccatgcggc  atgctcatctgagccgagaggtggaatccagggtacagataggagataccttttctgagc  ctatatcgtggcacctggctaccaaagtactgggaatactctgctgtggcctatttttg  gcattgttggactgaagattttcttctccaaattccagtgtgaagcgagagagagaagcat  gggcccgtgccttattcatggttccagcaggggacaggatcagagatgctccacatccag  ctgcttctcttcttcttagtcttagcctccaggggccaggccaaaaaggaaatccag  gcggaactggactggagaagaaagcacggacagcagaattgagagacgcccggaaacac  gcagtggaggtgactctggatccagagacggtcaccggaagctctgcgtttctgatctg  aaaactgtaacccatagaaaagctccccaggaggtgcctcactctgagaagagatttaca  aggaagagtgtggtggttctcagagtttccaagcagggaacattactggaggtggac  ggaggacacaataaaaaggtggcgctgggagtgtgccgggatgatgtggacaggaggaag  gagtacgtgactttgtctcccgatcatgggtactgggtcctcagactgaatggagaacat  ttgtatttcacattaaatccccgttttatcagcgtcttccccaggacccccctacaaaa  ataggggtcttctcctggactatgagtgtgggaccatctccttcttcaacataaatgaccag  tcccttatttataacctgacatgtcggtttgaaggcttattgaggccctacattgagtat  ccgtcctataatgagcaaaatggaactcccatagtcctgcccagtcacccagggaatca  gagaaagaggcctcttggaaggccctctgcaatcccagagacaagcaacagtgagtc  tcctcacaggcaaccaagcccttctccccagggtgaaatgtaggatgaatcacatccc  acattcttctttagggatattaaggtctctctccagatccaaagtcccgagcagccgg  ccaaggtggctccagatgaagggggaactggcctgtccacatgggagtcaggtgtcatgg  ctgccctgagctgggagggaagagctgacattacatttagtttgcctcactccatct  ggctaagtgatcttgaaataccacctctcaggtgaagaaccgtcaggaattcccatctca  caggctgtggtgtagattaagtagacaaggaatgtgaataatgcttagatcttattgatg  acagagtgtatcctaattggtttgttcattatattacactttcagtaaaaaaaaaaaaaa  aaaaa</p>
#85	<p>malmlslvlslklkgsgqwvfpgdpkpvqalvgedaafscflspktnaeamevrffrgqf  ssvvhlyrdgkdqpfmgmpqyqgrtklvkdsiaegrslrlenitvldaglygcrissqs  yyqkaiwelqvsalgsvglisitgyvdrdiqlcqsqgwfprptakwkpgqgdlstdsr  tnrdmhglfdveislvtqenagsiscsmrhahlsrevesrvqigdtffepiswhlatkvl  gilccglffgigvlgkiffskfckrreawagalfmvpagtgsemphpaaslllvlasr  pgppkknpggtglekkartgrierrpetrsggdsgsrdgspealrf</p>
#86	ATTTCATGGTTCCAGCAGGGAC
#87	GGGAGACAAAGTCACGTACTC

#88	TCCTGGTGTTCGTGGTCTGCTT
#89	GAGAGTCCTGGCTTTTGTGGGC
#90	GSSDLTWPPAIKLG
#91	DRYVAVRHPLRARGLR
#92	VAPRAKAHKSQDSLC
#93	CFRSTRHNFNMSMR
#94	MNGTYNTCGSSDLTWPPAIKLG
#95	RDTSDTFLCQLSQG
#96	GIQEGGFCFRSTRHNFNMSMRFP
#97	AKEFQEASALAVAPRAKAHKSQDSLCVTLA
#98	TCCTGCTCGTCGCTCTCCTGAT
#99	TCGCTTTTGTCTGCTATTGTC
#100	HNGSYEISVLMGNS
#101	NLPTPPTVENQORLA



#102	RKYRKDYELRQKKWSHIPPENIFPLETNETNHVSLKIDDDKRRDTIQRLRQCKYDKKRVILKDLKHNDGN FTEKQKIELNKLLOIDYYNLTKFYGTVKLDTMIFGVIEYCERGSILREVINDTISYPDGTMDWEFKISVL YDIAGMSYHLSSKTEVHGRLKSTNCVVDSDRMVVKITDFGCNSILPPKKDLWTAPEHLRQANISQKGDVY SYGIIAQEIIILRKETFYTLSCRDRNEKIFRVENSNGMKPFRPDLEETAEEKELEVYLLVKNCWEEDPEK RPDFKKIETTLAKIFGLFHDQKNESYMDTLIRRLQLYSRNLEHLVEERTQLYKAERDRADRLNFMLLPRL VVKSLKEKGFVEPELYEEVTIYFSDIVGFTTICKYSTPMEVVDMLNDIYKSFHDHVDHHDVYKVTIGDA YMASGLPKRNGNRHAIDIAKMALEILSFMGTFELEHLPLGLPIWIRIGVHSGPCAAGVVGIKMPRYCLFG DTVNTASRMESTGLPLRIHVSGSTIAILKRTECFLEYVRGETYLKGRGNETTYWLTGMKDQKFNLPPTP TVENQORLOAEFSDMIANSLQKROAGIRSQKPRRVASYKKGTEYLQLNTTDKESTYF
#103	GCTGGTAACATCTCTCCTGC
#104	GAAGAATGTTGTCCAGAGGT
#105	LINKVPLPVDKLAPL
#106	SEAVKKLLEALSHLV
#107	TGTTTTCAACTACCAGGGGC
#108	TGTTGGCTTTGGCAGAGTCC
#109	GAGGCAGAGTTCAGGCTTCACCGA
#110	TGTTGGCTTTGGCAGAGTCC
#111	TGMDMWSTQDLYDNFVTSVFQYEGLRWSCVRQSSGFTECRPYFTILGLPAMLQAVR
#112	DQWSTQDLYNNPVTAVFNYQGLWRSCVRESSGFTECRGYFTLL GLPAMLQAVR
#113	STQDLYNNPVTAVF
#114	DMWSTQDLYDNP
#115	CRPYFTILGLPA
#116	TNFWMSTANMYTG
#117	gccaggatca tgtccaccac cacatgccaa gtggtggcgt tcctcctgtc catcctgggg ctggccggct gcatcgccgc caccgggatg gacatgtgga gcaccagga cctgtacgac aaccgccgtca cctccgtgtt ccagtacgaa gggctctgga ggagctgcgt gaggcagagt tcaggcttca ccgaatgcag gccctatttc accatcctgg gacttccagc catgctgcag gcagtgcgag ccctgatgat cgtaggcatc gtcctgggtg ccattggcct cctggatatc atctttgccc tgaaatgcat ccgcatggc agcatggagg actctgccaa agccaacatg acactgacct ccgggatcat gttcattgtc tcaggctctt gtgcaattgc tggagtgtct gtgtttgcca acatgctggt gactaacttc tggatgtcca cagctaaccat gtacaccggc atgggtggga tgggtgcagac tgctcagacc aggtacacat ttggtgcggc tctgttcgtg ggctgggtcg ctggaggcct cacaetaatt ggggggtgtga tgatgtgcat cgcctgccgg ggcctggcgc cagaagaaac caactacaaa gccgtttctt atcatgcctc aggccacagt gttgccctaca agcctggagg cttcaaggcc agcactggct ttgggtccaa caccaaaaac aagaagatat acgatggagg tgcccgaca gaggacgagg tacaatctta tccttccaag cacgactatg tgtaatgtc taagacctct cagcac
#118	MSTTTCQVVAFLLSILGLAGCIAATGMDMWSTQDLYDNFVTSVF QYEGLRWSCVRQSSGFTECRPYFTILGLPAMLQAVRALMIVGIVLGAIGLLVSI FALK CIRIGSMEDSAKANMTLTSGIMFIVSGLCAIAGVSVEANMLVTNFWMSTANMYTGMGG MVQTVQTRYTFGAALFVGWVAGGLTLIGVMMCIACRGLAPEETNYKAVSYHASGHSV AYKPGGFKASTGFGSNTKNKKIYDGGARTEDEVQSYPSKHDYV
#119	gccaggatca tgtccaccac cacatgccaa gtggtggcgt tcctcctgtc catcctgggg ctggccggct gcatcgccgc caccgggatg gacatgtgga gcaccagga cctgtacgac aaccgccgtca cctccgtgtt ccagtacgaa gggctctgga ggagctgcgt gaggcagagt tcaggcttca ccgaatgcag gccctatttc accatcctgg gacttcc
#120	MSTTTCQVVAFLLSILGLAGCIAATGMDMWSTQDLYDNFVTSVFQYEGLRWSCVRQSSGFTECRPYFTI
#121	AATGAGAGGAAAGAGAAAAC
#122	ATGGTAGAAGAGTAGGCAAT
#123	EKWNLHKRIALKMVC
#124	CLGFNEKEMFK
#125	TAATGATGAACCTACACTGAGC

#126	ATGGACAAATGCCCTACCTT
#127	AGTGCTGGAAGGATGTGCGTGT
#128	TTGAGGTGGTTGTTGGGTTT
#129	AGATGTGCTGAGGCTGTAGA
#130	ATGAAGGTTGATTATTTGAG
#131	AGCCGCATACTCCCTTACCCCTCT
#132	GCAGCAGCCCAAACACCACA
#133	CTGAGCCGAGAGGTGGAATC
#134	CTCTCTCGCTTACACTGGAA
#135	QWQVFGPDKPVQAL
#136	AKWKGPQGQDLSTDS
#137	NMLVTNFWMSTANMYTGMGGMVQTVQTRYTFG

## SEQUENCE LISTING

<110> Ganymed Pharmaceuticals AG

Sahin Dr., Ugur

Tureci Dr., Özlem

Koslowski Dr., Michael

<120> Differentiell in Tumoren exprimierte Genprodukte und deren Verwendung

<130> 342-4PCT

<150> DE 102 54 601.0

<151> 2002-11-22

<160> 137

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1875

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1  
caggccagag tcccagctgt cctggactct gctgtgggga agggctgatg cagggtgtgga 60  
gtcaaatgtg ggtgcctcct gcagccgggt gccaggaggg gtggaggggc caccctgggc 120  
tttgtccggg agcctggtct tcccgctctt gggctgacag gtgctgctgc ctctgagccc 180  
tccctgctaa gagctgtgtg ctgggtaagg ctggtggccc tttgggctcc ctgtccagga 240  
tttgtgctct ggagggtagg gcttgctggg ctggggactg gaggggaacg tggagctcct 300  
tctgcctcct ttcctgcccc atgacagcag gcagatccca ggagagaaga gctcaggaga 360  
tgggaagagg atctgtccag gggtttagacc tcaagggtga cttggagtgc tttacggcac 420  
ccatgctttc tttgaggagt tttgtgtttg tgggtgtggg gtcggggctc acctcctccc 480  
acatccctgc ccagaggtgg gcagagtggg ggcagtgcct tgctccccct gctcgctctc 540  
tgctgacctc cggtccctg tgctgcccc aagaccatgaa tggcacctac aacacctgtg 600  
gctccagcga cctcacctgg cccccagcga tcaagctggg cttctacgcc tacttgggcg 660  
tcctgctggg gctaggcctg ctgctcaaca gcctggcgct ctgggtgttc tgctgccgca 720

tgacgacgtg gacggagacc cgcacttaca tgaccaacct ggcggtggcc gacctctgcc	780
tgctgtgcac cttgcccttc gtgctgcaact ccctgcgaga cacctcagac acgccgctgt	840
gccagctctc ccagggcatc tacctgacca acaggtacat gagcatcagc ctggtcacgg	900
ccatcgccgt ggaccgctat gtggccgtgc ggcacccgct gcgtgcccgc gggctgcggt	960
ccccaggca ggctgcggcc gtgtgcgcgg tcctctgggt gctggtcac cggctccctgg	1020
tggctcgctg gctcctgggg attcaggagg gcggcttctg cttcaggagc acccggcaca	1080
atttcaactc catggcgctc ccgctgctgg gattctacct gcccctggcc gtggtggtct	1140
tctgctccct gaagggtgtg actgccctgg ccagaggcc acccaccgac gtggggcagg	1200
cagaggccac ccgcaaggct gcccgcattg tctgggcca cctcctggtg ttcgtggtct	1260
cttcctgcc cctgcacgtg gggctgacag tgcgcctcgc agtgggctgg aacgcctgtg	1320
ccctcctgga gacgatccgt cgcgccctgt acataaccag caagctctca gatgccaaact	1380
gctgcctgga cgccatctgc tactactaca tggccaagga gttccaggag gcgtctgcac	1440
tggccgtggc tcccagtgt aaggcccaca aaagccagga ctctctgtgc gtgaccctcg	1500
cctaagaggc gtgctgtggg cgctgtgggc caggctctcg gggctccggg aggtgctgcc	1560
tgccagggga agctggaacc agtagcaagg agcccgggat cagccctgaa ctactgtgt	1620
attctcttgg agccttgggt gggcaggga gggccaggta cctgctctct tgggaagaga	1680
gagggacagg gacaaggga agaggactga ggccagagca aggccaatgt cagagacccc	1740
cgggatgggg cctcacactt gccaccccca gaaccagctc acctggccag agtgggttcc	1800
tgctggccag ggtgcagcct tgatgacacc tgccgctgcc cctcggggct ggaataaaac	1860
tccccacca gagtc	1875

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 3222

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 2

atgaagacgt tgctgttgga cttggctttg tggctactgc tcttccagcc cgggtggctg	60
tccttttagtt ccaggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg	120
atgatgggca actcagcctt tgcagagccc ctgaaaaact tgggaagatgc ggtgaatgag	180
gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct	240
actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt	300
gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca aatgcacaac ggatgggctg tgtcctcata	360
gggccctcat gtacatactc caccttccag atgtaccttg acacagaatt gagctacccc	420
atgatctcag ctggaagttt tggattgtca tgtgactata aagaaacctt aaccaggctg	480

atgtctccag ctagaaagtt gatgtacttc ttggttaact tttggaaaac caacgatctg 540  
cccttcaaaa cttattcctg gagcacttcg tatgtttaca agaatggtac agaaactgag 600  
gactgtttct ggtaccttaa tgctctggag gctagcgttt cctatttctc ccacgaactc 660  
ggctttaagg tgggtgtaag acaagataag gagtttcagg atatcttaat ggaccacaac 720  
aggaaaagca atgtgattat tatgtgtggt ggtccagagt tcctctacaa gctgaagggt 780  
gaccgagcag tggctgaaga cattgtcatt attctagtgg atcttttcaa tgaccagtac 840  
ttggaggaca atgtcacagc ccctgactat atgaaaaatg tccttgttct gacgctgtct 900  
cctgggaatt cccttctaaa tagctctttc tccaggaatc tatcaccaac aaaacgagac 960  
tttgccttg cctatttgaa tggaatcctg ctctttggac atatgctgaa gatatttctt 1020  
gaaaatggag aaaatattac ccccccaaa tttgctcatg ctttcaggaa tctcactttt 1080  
gaagggtatg acggtccagt gaccttggat gactgggggg atgttgacag taccatggtg 1140  
cttctgtata cctctgtgga caccaagaaa tacaaggttc ttttgaccta tgataccac 1200  
gtaaataaga cctatcctgt ggatatgagc cccacattca cttggaagaa ctctaaactt 1260  
cctaatagata ttacaggccg gggccctcag atcctgatga ttgcagtctt caccctcact 1320  
ggagctgtgg tgctgtcctt gctcgtcgct ctctgatgc tcagaaaata tagaaaagat 1380  
tatgaacttc gtcagaaaaa atggtccac attcctcctg aaaatatctt tcctctggag 1440  
accaatgaga ccaatcatgt tagcctcaag atcgatgatg acaaaagacg agatacaatc 1500  
cagagactac gacagtgcaa atacgacaaa aagcgagtga ttctcaaaga tctcaagcac 1560  
aatgatggtg atttcactga aaaacagaag atagaattga acaagttgct tcagattgac 1620  
tattacaacc tgaccaagtt ctacggcaca gtgaaacttg ataccatgat cttcgggggtg 1680  
atagaatact gtgagagagg atccctccg gaagttttaa atgacacaat ttcctaccct 1740  
gatggcacat tcatggattg ggagttaag atctctgtct tgtatgacat tgctaaggga 1800  
atgtcatatc tgactccag taagacagaa gtccatggtc gtctgaaatc taccaactgc 1860  
gtagtggaca gtagaatggt ggtgaagatc actgattttg gctgcaattc cattttacct 1920  
ccaaaaaagg acctgtggac agctccagag cacctccgcc aagccaacat ctctcagaaa 1980  
ggagatgtgt acagctatgg gatcatcgca caggagatca ttctgcggaa agaaaccttc 2040  
tacactttga gctgtcggga ccggaatgag aagattttca gagtgaaaaa ttccaatgga 2100  
atgaaaccct tccgccaga tttattcttg gaaacagcag aggaaaaaga gctagaagtg 2160  
tacctacttg taaaaaactg ttgggaggaa gatccagaaa agagaccaga tttcaaaaaa 2220  
attgagacta cacttgccaa gatatttgga ctttttcatg accaaaaaaa tgaaagctat 2280  
atggatacct tgatccgacg tctacagcta tattctcgaa acctggaaca tctggtagag 2340  
gaaaggacac agctgtacaa ggcagagagg gacagggctg acagacttaa ctttatgttg 2400  
cttccaaggc tagtggtaaa gtctctgaag gagaaaggct ttgtggagcc ggaactatat 2460  
gaggaagtta caatctactt cagtgcatt gtaggtttca ctactatctg caaatacagc 2520

```

accccatgga aagtgggtgga catgcttaat gacatctata agagttttga ccacattggt 2580
gatcatcatg atgtctacaa ggtggaaacc atcgggtgatg cgtacatggt ggctagtggg 2640
ttgcctaaga gaaatggcaa tcggcatgca atagacattg ccaagatggc cttggaaatc 2700
ctcagcttca tggggacctt tgagctggag catcttcctg gcctcccaat atggattcgc 2760
attggagttc actctggtcc ctgtgctgct ggagttgtgg gaatcaagat gcctcgttat 2820
tgtctatttg gagatacggg caacacagcc tctaggatgg aatccactgg cctccctttg 2880
agaattcacg tgagtggctc caccatagcc atcctgaaga gaactgagt ccagttcctt 2940
tatgaagtga gaggagaaac atacttaaag ggaagaggaa atgagactac ctactggctg 3000
actgggatga aggaccagaa attcaacctg ccaaccctc ctactgtgga gaatcaacag 3060
cgtttgcaag cagaattttc agacatgatt gccaaactctt tacagaaaag acaggcagca 3120
gggataagaa gccaaaaacc cagacgggta gccagctata aaaaaggcac tctggaatac 3180
ttgcagctga ataccacaga caaggagagc acctatTTTT aa 3222

```

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 336

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 3

```

atgaagacgt tgctgttgga cttggctttg tggctactgc tcttccagcc cgggtggctg 60
tccttttagtt cccagggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg 120
atgatgggca actcagcctt tgcagagccc ctgaaaaact tggaagatgc ggtgaatgag 180
gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct 240
actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt 300
gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca ccttga 336

```

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 777

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 4

```

atgaagacgt tgctgttgga cttggctttg tggctactgc tcttccagcc cgggtggctg 60
tccttttagtt cccagggtgag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg 120
atgatgggca actcagcctt tgcagagccc ctgaaaaact tggaagatgc ggtgaatgag 180
gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct 240

```

actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt 300  
gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca aatgcacaac ggatgggctg tgcctcata 360  
gggccctcat gtacatactc caccttccag atgtacctg acacagaatt gagctacccc 420  
atgatctcag ctggaagttt tggattgtca tgtgactata aagaaacctt aaccaggctg 480  
atgtctccag ctagaaagtt gatgtacttc ttggtttaact tttggaaaac caacgatctg 540  
cccttcaaaa cttattcctg gagcacttcg tatgtttaca agaatggtag agaaactgag 600  
gactgtttct ggtaccttaa tgctctggag gctagcgttt cctatttctc ccacgaactc 660  
ggctttaagg tgggtgtaag acaagataag gagtttcagg atatcttaat ggaccacaac 720  
aggaaaagca atgtgaccag tacttggagg acaatgtcac agcccctgac tatatga 777

<210> 5

<211> 3213

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

atgaagacgt tgctgttga cttggctttg tggtcactgc tcttccagcc cgggtggctg 60  
tccttttagtt cccaggtag tcagaactgc cacaatggca gctatgaaat cagcgtcctg 120  
atgatgggca actcagcctt tgcagagccc ctgaaaaact tggagatgc ggtgaatgag 180  
gggctggaaa tagtgagagg acgtctgcaa aatgctggcc taaatgtgac tgtgaacgct 240  
actttcatgt attcggatgg tctgattcat aactcaggcg actgccggag tagcacctgt 300  
gaaggcctcg acctactcag gaaaatttca aatgcacaac ggatgggctg tgcctcata 360  
gggccctcat gtacatactc caccttccag atgtacctg acacagaatt gagctacccc 420  
atgatctcag ctggaagttt tggattgtca tgtgactata aagaaacctt aaccaggctg 480  
atgtctccag ctagaaagtt gatgtacttc ttggtttaact tttggaaaac caacgatctg 540  
cccttcaaaa cttattcctg gagcacttcg tatgtttaca agaatggtag agaaactgag 600  
gactgtttct ggtaccttaa tgctctggag gctagcgttt cctatttctc ccacgaactc 660  
ggctttaagg tgggtgtaag acaagataag gagtttcagg atatcttaat ggaccacaac 720  
aggaaaagca atgtgattat tatgtgtggg ggtccagagt tcctctacaa gctgaagggt 780  
gaccgagcag tggctgaaga cattgtcatt attctagtgg atcttttcaa tgaccagtac 840  
ttggaggaca atgtcacagc ccctgactat atgaaaaatg tccttgttct gacgctgtct 900  
cctgggaatt cccttctaaa tagctctttc tccaggaatc tatcaccaac aaaacgagac 960  
tttgctcttg cctatttgaa tggaaatcctg ctctttggac atatgctgaa gatatttctt 1020  
gaaaatggag aaaatattac ccccccaaa tttgctcatg ctttcaggaa tctcactttt 1080  
gaagggtatg acgggtccagt gaccttggat gactgggggg atgttgacag taccatgggtg 1140

cttctgtata cctctgtgga caccaagaaa tacaaggttc ttttgacctg tgataccac 1200  
gtaaataaga cctatcctgt ggatatgagc cccacattca cttggaagaa ctctaaactt 1260  
cctaatagata ttacagggcg gggccctcag atcctgatga ttgcagtctt caccctcact 1320  
ggagctgtgg tgctgtcctt gctcgtcgtc ctctgatgc tcagaaaata tagaaaagat 1380  
tatgaacttc gtcagaaaaa atggtccac attcctcctg aaaatatctt tcctctggag 1440  
accaatgaga ccaatcatgt tagcctcaag atcgatgatg acaaaagacg agatacaatc 1500  
cagagactac gacagtgcaa atacgacaaa aagcgagtga ttctcaaaga tctcaagcac 1560  
aatgatggta atttactga aaaacagaag atagaattga acaagattga ctattacaac 1620  
ctgaccaagt tctacggcac agtgaaactt gataccatga tcttcggggt gatagaatac 1680  
gtgagagag gatccctccg ggaagtttta aatgacacaa tttcctacc tgatggcaca 1740  
ttcatggatt gggagttaa gatctctgtc ttgtatgaca ttgctaaggg aatgtcatat 1800  
ctgcactcca gtaagacaga agtccatggt cgtctgaaat ctaccaactg cgtagtggac 1860  
agtagaatgg tggatgaagat cactgatatt ggctgcaatt ccattttacc tccaaaaaag 1920  
gacctgtgga cagctccaga gcacctccgc caagccaaca tctctcagaa aggagatgtg 1980  
tacagctatg ggatcatcgc acaggagatc attctgcgga aagaaacctt ctacactttg 2040  
agctgtcggg accggaatga gaagattttc agagtggaaa attccaatgg aatgaaaccc 2100  
ttccgcccag atttattctt ggaaacagca gaggaaaaag agctagaagt gtacctactt 2160  
gtaaaaaact gttgggagga agatccagaa aagagaccag atttcaaaaa aattgagact 2220  
acacttgcca agatattttg actttttcat gaccaaaaaa atgaaagcta tatggatacc 2280  
ttgatccgac gtctacagct atattctcga aacctggaac atctggtaga ggaaaggaca 2340  
cagctgtaca aggcagagag ggacagggtt gacagactta actttatgtt gcttccaagg 2400  
ctagtggtaa agtctctgaa ggagaaaggc tttgtggagc cggaactata tgaggaagtt 2460  
acaatctact tcagtgcacat tgtaggtttc actactatct gcaaatacag ccccccatg 2520  
gaagtgggtg acatgcttaa tgacatctat aagagttttg accacattgt tgatcatcat 2580  
gatgtctaca aggtggaaac catcgggtgat gcgtacatgg tggctagtgg tttgcctaag 2640  
agaaatggca atcggcatgc aatagacatt gccaaagatg ccttggaat cctcagcttc 2700  
atggggacct ttgagctgga gcatcttcct ggcctcccaa tatggattcg cattggagtt 2760  
cactctggtc cctgtgctgc tggagtgtg ggaatcaaga tgcctcgta ttgtctattt 2820  
ggagatacgg tcaacacagc ctctaggatg gaatccactg gcctcccttt gagaattcac 2880  
gtgagtggct ccaccatagc catcctgaag agaactgagt gccagttcct ttatgaagtg 2940  
agaggagaaa catacttaaa gggaagagga aatgagacta cctactggct gactgggatg 3000  
aaggaccaga aattcaacct gccaacctt cctactgtgg agaataca gcgtttgcaa 3060  
gcagaatttt cagacatgat tgccaactct ttacagaaaa gacaggcagc agggataaga 3120  
agccaaaaac ccagacgggt agccagctat aaaaaaggca ctctggaata cttgcagctg 3180



aataccacag acaaggagag cacctatattt taa

3213

<210> 6  
 <211> 550  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 6  
 ggggacactt tgtatggcaa gtggaaccac tggcttggtg gattttgcta gatttttctg 60  
 atttttaaac tcctgaaaaa tatcccagat aactgtcatg aagctggtaa ctatcttcct 120  
 gctggtgacc atcagccttt gtagttactc tgctactgcc ttcctcatca acaaagtgcc 180  
 ccttcctggt gacaagttgg cacctttacc tctggacaac attcttccct ttatggatcc 240  
 attaaagctt cttctgaaaa ctctgggcat ttctgttgag caccttgtgg aggggctaag 300  
 gaagtgtgta aatgagctgg gaccagaggc ttctgaagct gtgaagaaac tgctggaggc 360  
 gctatcacac ttggtgtgac atcaagataa agagcggagg tggatgggga tggaagatga 420  
 tgctcctatc ctccctgcct gaaacctgtt ctaccaatta tagatcaaata gccctaaaat 480  
 gtagtgaccc gtgaaaagga caaataaagc aatgaatact aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540  
 aaaaaaaaaa 550

<210> 7  
 <211> 786  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 7  
 atggccgtga ctgcctgtca gggcttgggg ttcgtggttt cactgattgg gattgcgggc 60  
 atcattgctg ccacctgcat ggaccagtgg agcacccaag acttgtaaca caaccccgta 120  
 acagctgttt tcaactacca ggggctgtgg cgctcctgtg tccgagagag ctctggcttc 180  
 accgagtgcc ggggctactt caccctgctg gggctgccag ccatgctgca ggcagtgcga 240  
 gccctgatga tcgtaggcat cgctcctgggt gccattggcc tcctgggtatc catctttgcc 300  
 ctgaaatgca tccgcattgg cagcatggag gactctgcca aagccaacat gacactgacc 360  
 tccgggatca tgttcattgt ctcaggctct tgtgcaattg ctggagtgtc tgtgtttgcc 420  
 aacatgctgg tgactaactt ctggatgtcc acagctaaca tgtacaccgg catgggtggg 480  
 atggtgcaga ctgttcagac caggtaacac tttggtgcgg ctctgttcgt gggctggggtc 540  
 gctggaggcc tcacactaat tgggggtgtg atgatgtgca tcgcctgccg gggcctggca 600  
 ccagaagaaa ccaactacaa agccgtttct tatcatgcct caggccacag tgttgccctac 660  
 aagcctggag gcttcaaggc cagcactggc tttgggtcca acacaaaaa caagaagata 720  
 tacgatggag gtgcccgcac agaggacgag gtacaatctt atccttccaa gcacgactat 780

gtgtaa

786

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 180

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

<400> 8  
 tgcgccacca tggccgtgac tgcctgtcag ggcttgggggt tcgtggtttc actgattggg 60  
 attgcggggca tcattgctgc cacctgcatg gaccagtgga gcacccaaga cttgtacaac 120  
 aaccccgtaa cagctgtttt caactaccag gggctgtggc gctcctgtgt ccgagagagc 180

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 309

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 9

Met Asn Gly Thr Tyr Asn Thr Cys Gly Ser Ser Asp Leu Thr Trp Pro  
 1 5 10 15

Pro Ala Ile Lys Leu Gly Phe Tyr Ala Tyr Leu Gly Val Leu Leu Val  
 20 25 30

Leu Gly Leu Leu Leu Asn Ser Leu Ala Leu Trp Val Phe Cys Cys Arg  
 35 40 45

Met Gln Gln Trp Thr Glu Thr Arg Ile Tyr Met Thr Asn Leu Ala Val  
 50 55 60

Ala Asp Leu Cys Leu Leu Cys Thr Leu Pro Phe Val Leu His Ser Leu  
 65 70 75 80

Arg Asp Thr Ser Asp Thr Pro Leu Cys Gln Leu Ser Gln Gly Ile Tyr  
 85 90 95

Leu Thr Asn Arg Tyr Met Ser Ile Ser Leu Val Thr Ala Ile Ala Val  
 100 105 110

Asp Arg Tyr Val Ala Val Arg His Pro Leu Arg Ala Arg Gly Leu Arg  
 115 120 125

Ser Pro Arg Gln Ala Ala Ala Val Cys Ala Val Leu Trp Val Leu Val  
 130 135 140

Ile Gly Ser Leu Val Ala Arg Trp Leu Leu Gly Ile Gln Glu Gly Gly  
145 150 155 160

Phe Cys Phe Arg Ser Thr Arg His Asn Phe Asn Ser Met Arg Phe Pro  
165 170 175

Leu Leu Gly Phe Tyr Leu Pro Leu Ala Val Val Val Phe Cys Ser Leu  
180 185 190

Lys Val Val Thr Ala Leu Ala Gln Arg Pro Pro Thr Asp Val Gly Gln  
195 200 205

Ala Glu Ala Thr Arg Lys Ala Ala Arg Met Val Trp Ala Asn Leu Leu  
210 215 220

Val Phe Val Val Cys Phe Leu Pro Leu His Val Gly Leu Thr Val Arg  
225 230 235 240

Leu Ala Val Gly Trp Asn Ala Cys Ala Leu Leu Glu Thr Ile Arg Arg  
245 250 255

Ala Leu Tyr Ile Thr Ser Lys Leu Ser Asp Ala Asn Cys Cys Leu Asp  
260 265 270

Ala Ile Cys Tyr Tyr Tyr Met Ala Lys Glu Phe Gln Glu Ala Ser Ala  
275 280 285

Leu Ala Val Ala Pro Arg Ala Lys Ala His Lys Ser Gln Asp Ser Leu  
290 295 300

Cys Val Thr Leu Ala  
305

<210> 10

<211> 394

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Thr Ala Gly Arg Ser Gln Glu Arg Arg Ala Gln Glu Met Gly Arg  
1 5 10 15

Gly Ser Val Gln Gly Leu Asp Leu Lys Gly Asp Leu Glu Phe Phe Thr  
20 25 30

Ala Pro Met Leu Ser Leu Arg Ser Phe Val Phe Val Gly Val Gly Ser  
35 40 45

Gly Leu Thr Ser Ser His Ile Pro Ala Gln Arg Trp Ala Glu Trp Gly  
50 55 60

Gln Cys Leu Ala Pro Pro Ala Arg Ser Leu Leu Thr Ser Gly Ser Leu  
65 70 75 80

Cys Cys Pro Arg Thr Met Asn Gly Thr Tyr Asn Thr Cys Gly Ser Ser  
85 90 95

Asp Leu Thr Trp Pro Pro Ala Ile Lys Leu Gly Phe Tyr Ala Tyr Leu  
100 105 110

Gly Val Leu Leu Val Leu Gly Leu Leu Leu Asn Ser Leu Ala Leu Trp  
115 120 125

Val Phe Cys Cys Arg Met Gln Gln Trp Thr Glu Thr Arg Ile Tyr Met  
130 135 140

Thr Asn Leu Ala Val Ala Asp Leu Cys Leu Leu Cys Thr Leu Pro Phe  
145 150 155 160

Val Leu His Ser Leu Arg Asp Thr Ser Asp Thr Pro Leu Cys Gln Leu  
165 170 175

Ser Gln Gly Ile Tyr Leu Thr Asn Arg Tyr Met Ser Ile Ser Leu Val  
180 185 190

Thr Ala Ile Ala Val Asp Arg Tyr Val Ala Val Arg His Pro Leu Arg  
195 200 205

Ala Arg Gly Leu Arg Ser Pro Arg Gln Ala Ala Ala Val Cys Ala Val  
210 215 220

Leu Trp Val Leu Val Ile Gly Ser Leu Val Ala Arg Trp Leu Leu Gly  
225 230 235 240

Ile Gln Glu Gly Gly Phe Cys Phe Arg Ser Thr Arg His Asn Phe Asn  
245 250 255

Ser Met Ala Phe Pro Leu Leu Gly Phe Tyr Leu Pro Leu Ala Val Val  
260 265 270

Val Phe Cys Ser Leu Lys Val Val Thr Ala Leu Ala Gln Arg Pro Pro  
275 280 285

Thr Asp Val Gly Gln Ala Glu Ala Thr Arg Lys Ala Ala Arg Met Val  
290 295 300

Trp Ala Asn Leu Leu Val Phe Val Val Cys Phe Leu Pro Leu His Val  
305 310 315 320

Gly Leu Thr Val Arg Leu Ala Val Gly Trp Asn Ala Cys Ala Leu Leu  
 325 330 335

Glu Thr Ile Arg Arg Ala Leu Tyr Ile Thr Ser Lys Leu Ser Asp Ala  
 340 345 350

Asn Cys Cys Leu Asp Ala Ile Cys Tyr Tyr Tyr Met Ala Lys Glu Phe  
 355 360 365

Gln Glu Ala Ser Ala Leu Ala Val Ala Pro Ser Ala Lys Ala His Lys  
 370 375 380

Ser Gln Asp Ser Leu Cys Val Thr Leu Ala  
 385 390

<210> 11

<211> 1073

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln  
 1 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn  
 20 25 30

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala  
 35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile  
 50 55 60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala  
 65 70 75 80

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg  
 85 90 95

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Asn Ala  
 100 105 110

Gln Arg Met Gly Cys Val Leu Ile Gly Pro Ser Cys Thr Tyr Ser Thr  
 115 120 125

Phe Gln Met Tyr Leu Asp Thr Glu Leu Ser Tyr Pro Met Ile Ser Ala  
 130 135 140

Gly Ser Phe Gly Leu Ser Cys Asp Tyr Lys Glu Thr Leu Thr Arg Leu  
145 150 155 160

Met Ser Pro Ala Arg Lys Leu Met Tyr Phe Leu Val Asn Phe Trp Lys  
165 170 175

Thr Asn Asp Leu Pro Phe Lys Thr Tyr Ser Trp Ser Thr Ser Tyr Val  
180 185 190

Tyr Lys Asn Gly Thr Glu Thr Glu Asp Cys Phe Trp Tyr Leu Asn Ala  
195 200 205

Leu Glu Ala Ser Val Ser Tyr Phe Ser His Glu Leu Gly Phe Lys Val  
210 215 220

Val Leu Arg Gln Asp Lys Glu Phe Gln Asp Ile Leu Met Asp His Asn  
225 230 235 240

Arg Lys Ser Asn Val Ile Ile Met Cys Gly Gly Pro Glu Phe Leu Tyr  
245 250 255

Lys Leu Lys Gly Asp Arg Ala Val Ala Glu Asp Ile Val Ile Ile Leu  
260 265 270

Val Asp Leu Phe Asn Asp Gln Tyr Leu Glu Asp Asn Val Thr Ala Pro  
275 280 285

Asp Tyr Met Lys Asn Val Leu Val Leu Thr Leu Ser Pro Gly Asn Ser  
290 295 300

Leu Leu Asn Ser Ser Phe Ser Arg Asn Leu Ser Pro Thr Lys Arg Asp  
305 310 315 320

Phe Ala Leu Ala Tyr Leu Asn Gly Ile Leu Leu Phe Gly His Met Leu  
325 330 335

Lys Ile Phe Leu Glu Asn Gly Glu Asn Ile Thr Thr Pro Lys Phe Ala  
340 345 350

His Ala Phe Arg Asn Leu Thr Phe Glu Gly Tyr Asp Gly Pro Val Thr  
355 360 365

Leu Asp Asp Trp Gly Asp Val Asp Ser Thr Met Val Leu Leu Tyr Thr  
370 375 380

Ser Val Asp Thr Lys Lys Tyr Lys Val Leu Leu Thr Tyr Asp Thr His  
385 390 395 400

Val Asn Lys Thr Tyr Pro Val Asp Met Ser Pro Thr Phe Thr Trp Lys  
405 410 415

Asn Ser Lys Leu Pro Asn Asp Ile Thr Gly Arg Gly Pro Gln Ile Leu  
 420 425 430  
 Met Ile Ala Val Phe Thr Leu Thr Gly Ala Val Val Leu Leu Leu  
 435 440 445  
 Val Ala Leu Leu Met Leu Arg Lys Tyr Arg Lys Asp Tyr Glu Leu Arg  
 450 455 460  
 Gln Lys Lys Trp Ser His Ile Pro Pro Glu Asn Ile Phe Pro Leu Glu  
 465 470 475 480  
 Thr Asn Glu Thr Asn His Val Ser Leu Lys Ile Asp Asp Asp Lys Arg  
 485 490 495  
 Arg Asp Thr Ile Gln Arg Leu Arg Gln Cys Lys Tyr Asp Lys Lys Arg  
 500 505 510  
 Val Ile Leu Lys Asp Leu Lys His Asn Asp Gly Asn Phe Thr Glu Lys  
 515 520 525  
 Gln Lys Ile Glu Leu Asn Lys Leu Leu Gln Ile Asp Tyr Tyr Asn Leu  
 530 535 540  
 Thr Lys Phe Tyr Gly Thr Val Lys Leu Asp Thr Met Ile Phe Gly Val  
 545 550 555 560  
 Ile Glu Tyr Cys Glu Arg Gly Ser Leu Arg Glu Val Leu Asn Asp Thr  
 565 570 575  
 Ile Ser Tyr Pro Asp Gly Thr Phe Met Asp Trp Glu Phe Lys Ile Ser  
 580 585 590  
 Val Leu Tyr Asp Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr Leu His Ser Ser Lys  
 595 600 605  
 Thr Glu Val His Gly Arg Leu Lys Ser Thr Asn Cys Val Val Asp Ser  
 610 615 620  
 Arg Met Val Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Cys Asn Ser Ile Leu Pro  
 625 630 635 640  
 Pro Lys Lys Asp Leu Trp Thr Ala Pro Glu His Leu Arg Gln Ala Asn  
 645 650 655  
 Ile Ser Gln Lys Gly Asp Val Tyr Ser Tyr Gly Ile Ile Ala Gln Glu  
 660 665 670  
 Ile Ile Leu Arg Lys Glu Thr Phe Tyr Thr Leu Ser Cys Arg Asp Arg  
 675 680 685

Asn Glu Lys Ile Phe Arg Val Glu Asn Ser Asn Gly Met Lys Pro Phe  
690 695 700

Arg Pro Asp Leu Phe Leu Glu Thr Ala Glu Glu Lys Glu Leu Glu Val  
705 710 715 720

Tyr Leu Leu Val Lys Asn Cys Trp Glu Glu Asp Pro Glu Lys Arg Pro  
725 730 735

Asp Phe Lys Lys Ile Glu Thr Thr Leu Ala Lys Ile Phe Gly Leu Phe  
740 745 750

His Asp Gln Lys Asn Glu Ser Tyr Met Asp Thr Leu Ile Arg Arg Leu  
755 760 765

Gln Leu Tyr Ser Arg Asn Leu Glu His Leu Val Glu Glu Arg Thr Gln  
770 775 780

Leu Tyr Lys Ala Glu Arg Asp Arg Ala Asp Arg Leu Asn Phe Met Leu  
785 790 795 800

Leu Pro Arg Leu Val Val Lys Ser Leu Lys Glu Lys Gly Phe Val Glu  
805 810 815

Pro Glu Leu Tyr Glu Glu Val Thr Ile Tyr Phe Ser Asp Ile Val Gly  
820 825 830

Phe Thr Thr Ile Cys Lys Tyr Ser Thr Pro Met Glu Val Val Asp Met  
835 840 845

Leu Asn Asp Ile Tyr Lys Ser Phe Asp His Ile Val Asp His His Asp  
850 855 860

Val Tyr Lys Val Glu Thr Ile Gly Asp Ala Tyr Met Val Ala Ser Gly  
865 870 875 880

Leu Pro Lys Arg Asn Gly Asn Arg His Ala Ile Asp Ile Ala Lys Met  
885 890 895

Ala Leu Glu Ile Leu Ser Phe Met Gly Thr Phe Glu Leu Glu His Leu  
900 905 910

Pro Gly Leu Pro Ile Trp Ile Arg Ile Gly Val His Ser Gly Pro Cys  
915 920 925

Ala Ala Gly Val Val Gly Ile Lys Met Pro Arg Tyr Cys Leu Phe Gly  
930 935 940

Asp Thr Val Asn Thr Ala Ser Arg Met Glu Ser Thr Gly Leu Pro Leu  
945 950 955 960



Arg Ile His Val Ser Gly Ser Thr Ile Ala Ile Leu Lys Arg Thr Glu  
 965 970 975

Cys Gln Phe Leu Tyr Glu Val Arg Gly Glu Thr Tyr Leu Lys Gly Arg  
 980 985 990

Gly Asn Glu Thr Thr Tyr Trp Leu Thr Gly Met Lys Asp Gln Lys Phe  
 995 1000 1005

Asn Leu Pro Thr Pro Pro Thr Val Glu Asn Gln Gln Arg Leu Gln  
 1010 1015 1020

Ala Glu Phe Ser Asp Met Ile Ala Asn Ser Leu Gln Lys Arg Gln  
 1025 1030 1035

Ala Ala Gly Ile Arg Ser Gln Lys Pro Arg Arg Val Ala Ser Tyr  
 1040 1045 1050

Lys Lys Gly Thr Leu Glu Tyr Leu Gln Leu Asn Thr Thr Asp Lys  
 1055 1060 1065

Glu Ser Thr Tyr Phe  
 1070

<210> 12

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln  
 1 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn  
 20 25 30

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala  
 35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile  
 50 55 60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala  
 65 70 75 80

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg  
 85 90 95

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Pro  
 100 105 110

<210> 13

<211> 258

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln  
 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn  
 20 25 30

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala  
 35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile  
 50 55 60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala  
 65 70 75 80

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg  
 85 90 95

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Asn Ala  
 100 105 110

Gln Arg Met Gly Cys Val Leu Ile Gly Pro Ser Cys Thr Tyr Ser Thr  
 115 120 125

Phe Gln Met Tyr Leu Asp Thr Glu Leu Ser Tyr Pro Met Ile Ser Ala  
 130 135 140

Gly Ser Phe Gly Leu Ser Cys Asp Tyr Lys Glu Thr Leu Thr Arg Leu  
 145 150 155 160

Met Ser Pro Ala Arg Lys Leu Met Tyr Phe Leu Val Asn Phe Trp Lys  
 165 170 175

Thr Asn Asp Leu Pro Phe Lys Thr Tyr Ser Trp Ser Thr Ser Tyr Val  
 180 185 190

Tyr Lys Asn Gly Thr Glu Thr Glu Asp Cys Phe Trp Tyr Leu Asn Ala  
 195 200 205

Leu Glu Ala Ser Val Ser Tyr Phe Ser His Glu Leu Gly Phe Lys Val  
 210 215 220

Val Leu Arg Gln Asp Lys Glu Phe Gln Asp Ile Leu Met Asp His Asn  
 225 230 235 240

Arg Lys Ser Asn Val Thr Ser Thr Trp Arg Thr Met Ser Gln Pro Leu  
 245 250 255

Thr Ile

<210> 14

<211> 1070

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Met Lys Thr Leu Leu Leu Asp Leu Ala Leu Trp Ser Leu Leu Phe Gln  
 1 5 10 15

Pro Gly Trp Leu Ser Phe Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Cys His Asn  
 20 25 30

Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser Ala Phe Ala  
 35 40 45

Glu Pro Leu Lys Asn Leu Glu Asp Ala Val Asn Glu Gly Leu Glu Ile  
 50 55 60

Val Arg Gly Arg Leu Gln Asn Ala Gly Leu Asn Val Thr Val Asn Ala  
 65 70 75 80

Thr Phe Met Tyr Ser Asp Gly Leu Ile His Asn Ser Gly Asp Cys Arg  
 85 90 95

Ser Ser Thr Cys Glu Gly Leu Asp Leu Leu Arg Lys Ile Ser Asn Ala  
 100 105 110

Gln Arg Met Gly Cys Val Leu Ile Gly Pro Ser Cys Thr Tyr Ser Thr  
 115 120 125

Phe Gln Met Tyr Leu Asp Thr Glu Leu Ser Tyr Pro Met Ile Ser Ala  
 130 135 140

Gly Ser Phe Gly Leu Ser Cys Asp Tyr Lys Glu Thr Leu Thr Arg Leu  
 145 150 155 160

Met Ser Pro Ala Arg Lys Leu Met Tyr Phe Leu Val Asn Phe Trp Lys  
 165 170 175  
 Thr Asn Asp Leu Pro Phe Lys Thr Tyr Ser Trp Ser Thr Ser Tyr Val  
 180 185 190  
 Tyr Lys Asn Gly Thr Glu Thr Glu Asp Cys Phe Trp Tyr Leu Asn Ala  
 195 200 205  
 Leu Glu Ala Ser Val Ser Tyr Phe Ser His Glu Leu Gly Phe Lys Val  
 210 215 220  
 Val Leu Arg Gln Asp Lys Glu Phe Gln Asp Ile Leu Met Asp His Asn  
 225 230 235 240  
 Arg Lys Ser Asn Val Ile Ile Met Cys Gly Gly Pro Glu Phe Leu Tyr  
 245 250 255  
 Lys Leu Lys Gly Asp Arg Ala Val Ala Glu Asp Ile Val Ile Ile Leu  
 260 265 270  
 Val Asp Leu Phe Asn Asp Gln Tyr Leu Glu Asp Asn Val Thr Ala Pro  
 275 280 285  
 Asp Tyr Met Lys Asn Val Leu Val Leu Thr Leu Ser Pro Gly Asn Ser  
 290 295 300  
 Leu Leu Asn Ser Ser Phe Ser Arg Asn Leu Ser Pro Thr Lys Arg Asp  
 305 310 315 320  
 Phe Ala Leu Ala Tyr Leu Asn Gly Ile Leu Leu Phe Gly His Met Leu  
 325 330 335  
 Lys Ile Phe Leu Glu Asn Gly Glu Asn Ile Thr Thr Pro Lys Phe Ala  
 340 345 350  
 His Ala Phe Arg Asn Leu Thr Phe Glu Gly Tyr Asp Gly Pro Val Thr  
 355 360 365  
 Leu Asp Asp Trp Gly Asp Val Asp Ser Thr Met Val Leu Leu Tyr Thr  
 370 375 380  
 Ser Val Asp Thr Lys Lys Tyr Lys Val Leu Leu Thr Tyr Asp Thr His  
 385 390 395 400  
 Val Asn Lys Thr Tyr Pro Val Asp Met Ser Pro Thr Phe Thr Trp Lys  
 405 410 415  
 Asn Ser Lys Leu Pro Asn Asp Ile Thr Gly Arg Gly Pro Gln Ile Leu  
 420 425 430

Met Ile Ala Val Phe Thr Leu Thr Gly Ala Val Val Leu Leu Leu Leu  
 435 440 445

Val Ala Leu Leu Met Leu Arg Lys Tyr Arg Lys Asp Tyr Glu Leu Arg  
 450 455 460

Gln Lys Lys Trp Ser His Ile Pro Pro Glu Asn Ile Phe Pro Leu Glu  
 465 470 475 480

Thr Asn Glu Thr Asn His Val Ser Leu Lys Ile Asp Asp Asp Lys Arg  
 485 490 495

Arg Asp Thr Ile Gln Arg Leu Arg Gln Cys Lys Tyr Asp Lys Lys Arg  
 500 505 510

Val Ile Leu Lys Asp Leu Lys His Asn Asp Gly Asn Phe Thr Glu Lys  
 515 520 525

Gln Lys Ile Glu Leu Asn Lys Ile Asp Tyr Tyr Asn Leu Thr Lys Phe  
 530 535 540

Tyr Gly Thr Val Lys Leu Asp Thr Met Ile Phe Gly Val Ile Glu Tyr  
 545 550 555 560

Cys Glu Arg Gly Ser Leu Arg Glu Val Leu Asn Asp Thr Ile Ser Tyr  
 565 570 575

Pro Asp Gly Thr Phe Met Asp Trp Glu Phe Lys Ile Ser Val Leu Tyr  
 580 585 590

Asp Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr Leu His Ser Ser Lys Thr Glu Val  
 595 600 605

His Gly Arg Leu Lys Ser Thr Asn Cys Val Val Asp Ser Arg Met Val  
 610 615 620

Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Cys Asn Ser Ile Leu Pro Pro Lys Lys  
 625 630 635 640

Asp Leu Trp Thr Ala Pro Glu His Leu Arg Gln Ala Asn Ile Ser Gln  
 645 650 655

Lys Gly Asp Val Tyr Ser Tyr Gly Ile Ile Ala Gln Glu Ile Ile Leu  
 660 665 670

Arg Lys Glu Thr Phe Tyr Thr Leu Ser Cys Arg Asp Arg Asn Glu Lys  
 675 680 685

Ile Phe Arg Val Glu Asn Ser Asn Gly Met Lys Pro Phe Arg Pro Asp  
 690 695 700

Leu Phe Leu Glu Thr Ala Glu Glu Lys Glu Leu Glu Val Tyr Leu Leu  
705 710 715 720

Val Lys Asn Cys Trp Glu Glu Asp Pro Glu Lys Arg Pro Asp Phe Lys  
725 730 735

Lys Ile Glu Thr Thr Leu Ala Lys Ile Phe Gly Leu Phe His Asp Gln  
740 745 750

Lys Asn Glu Ser Tyr Met Asp Thr Leu Ile Arg Arg Leu Gln Leu Tyr  
755 760 765

Ser Arg Asn Leu Glu His Leu Val Glu Glu Arg Thr Gln Leu Tyr Lys  
770 775 780

Ala Glu Arg Asp Arg Ala Asp Arg Leu Asn Phe Met Leu Leu Pro Arg  
785 790 795 800

Leu Val Val Lys Ser Leu Lys Glu Lys Gly Phe Val Glu Pro Glu Leu  
805 810 815

Tyr Glu Glu Val Thr Ile Tyr Phe Ser Asp Ile Val Gly Phe Thr Thr  
820 825 830

Ile Cys Lys Tyr Ser Thr Pro Met Glu Val Val Asp Met Leu Asn Asp  
835 840 845

Ile Tyr Lys Ser Phe Asp His Ile Val Asp His His Asp Val Tyr Lys  
850 855 860

Val Glu Thr Ile Gly Asp Ala Tyr Met Val Ala Ser Gly Leu Pro Lys  
865 870 875 880

Arg Asn Gly Asn Arg His Ala Ile Asp Ile Ala Lys Met Ala Leu Glu  
885 890 895

Ile Leu Ser Phe Met Gly Thr Phe Glu Leu Glu His Leu Pro Gly Leu  
900 905 910

Pro Ile Trp Ile Arg Ile Gly Val His Ser Gly Pro Cys Ala Ala Gly  
915 920 925

Val Val Gly Ile Lys Met Pro Arg Tyr Cys Leu Phe Gly Asp Thr Val  
930 935 940

Asn Thr Ala Ser Arg Met Glu Ser Thr Gly Leu Pro Leu Arg Ile His  
945 950 955 960

Val Ser Gly Ser Thr Ile Ala Ile Leu Lys Arg Thr Glu Cys Gln Phe  
965 970 975

Leu Tyr Glu Val Arg Gly Glu Thr Tyr Leu Lys Gly Arg Gly Asn Glu  
 980 985 990

Thr Thr Tyr Trp Leu Thr Gly Met Lys Asp Gln Lys Phe Asn Leu Pro  
 995 1000 1005

Thr Pro Pro Thr Val Glu Asn Gln Gln Arg Leu Gln Ala Glu Phe  
 1010 1015 1020

Ser Asp Met Ile Ala Asn Ser Leu Gln Lys Arg Gln Ala Ala Gly  
 1025 1030 1035

Ile Arg Ser Gln Lys Pro Arg Arg Val Ala Ser Tyr Lys Lys Gly  
 1040 1045 1050

Thr Leu Glu Tyr Leu Gln Leu Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ser Thr  
 1055 1060 1065

Tyr Phe  
 1070

<210> 15

<211> 93

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Met Lys Leu Val Thr Ile Phe Leu Leu Val Thr Ile Ser Leu Cys Ser  
 1 5 10 15

Tyr Ser Ala Thr Ala Lys Leu Ile Asn Lys Cys Pro Leu Pro Val Asp  
 20 25 30

Lys Leu Ala Pro Leu Pro Leu Asp Asn Ile Leu Pro Phe Met Asp Pro  
 35 40 45

Leu Lys Leu Leu Leu Lys Thr Leu Gly Ile Ser Val Glu His Leu Val  
 50 55 60

Glu Gly Leu Arg Lys Cys Val Asn Glu Leu Gly Pro Glu Ala Ser Glu  
 65 70 75 80

Ala Val Lys Lys Leu Leu Glu Ala Leu Ser His Leu Val  
 85 90

<210> 16

&lt;211&gt; 261

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 16

Met Ala Val Thr Ala Cys Gln Gly Leu Gly Phe Val Val Ser Leu Ile  
 1 5 10 15

Gly Ile Ala Gly Ile Ile Ala Ala Thr Cys Met Asp Gln Trp Ser Thr  
 20 25 30

Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln Gly  
 35 40 45

Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg  
 50 55 60

Gly Tyr Phe Thr Leu Leu Gly Leu Pro Ala Met Leu Gln Ala Val Arg  
 65 70 75 80

Ala Leu Met Ile Val Gly Ile Val Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Val  
 85 90 95

Ser Ile Phe Ala Leu Lys Cys Ile Arg Ile Gly Ser Met Glu Asp Ser  
 100 105 110

Ala Lys Ala Asn Met Thr Leu Thr Ser Gly Ile Met Phe Ile Val Ser  
 115 120 125

Gly Leu Cys Ala Ile Ala Gly Val Ser Val Phe Ala Asn Met Leu Val  
 130 135 140

Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly Met Gly Gly  
 145 150 155 160

Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ala Leu Phe  
 165 170 175

Val Gly Trp Val Ala Gly Gly Leu Thr Leu Ile Gly Gly Val Met Met  
 180 185 190

Cys Ile Ala Cys Arg Gly Leu Ala Pro Glu Glu Thr Asn Tyr Lys Ala  
 195 200 205

Val Ser Tyr His Ala Ser Gly His Ser Val Ala Tyr Lys Pro Gly Gly  
 210 215 220

Phe Lys Ala Ser Thr Gly Phe Gly Ser Asn Thr Lys Asn Lys Lys Ile  
 225 230 235 240



Seite 23

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 20

aggtacatga gcatcagcct g

21

<210> 21

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 21

gcagcagttg gcatctgaga g

21

<210> 22

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 22

gcaatagaca ttgccaagat g

21

<210> 23

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 23

aacgctgttg attctccaca g

21

<210> 24

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 24

ggatcctcct ttagttccca ggtgagtcag aac

33

<210> 25

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 25

tgctctggag gctagcgttt c

21

<210> 26

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 26

accaatcatg ttagcctcaa g

21

<210> 27

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 27  
agctatggga tcatcgaca g 21

<210> 28

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 28  
cctttgagct ggagcatctt c 21

<210> 29

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 29  
tttctagct ggagacatca g 21

<210> 30

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 30  
caccatggta ctgtcaacat c 21

<210> 31

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 31  
atgtcataca agacagagat c 21

<210> 32

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 32  
tctgccttgt acagctgtgt c 21

<210> 33

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 33  
tctgtggtat tcagctgcaa g 21

<210> 34

<211> 22

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 34  
tactcaggaa aatttcacct tg 22

<210> 35

<211> 27

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 35

gaccacaaca ggaaaagcaa tgtgacc

27

<210> 36

<211> 22

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 36

gatagaattg aacaagattg ac

22

<210> 37

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 37

cagcctttgt agttactctg c

21

<210> 38

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 38

tgtcacacca agtgtgatag c

21

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 28

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

&lt;400&gt; 39

ggttcgtggt ttcactgatt gggattgc

28

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

&lt;400&gt; 40

cggctttgta gttggtttct tctggtg

27

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 3814

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 41

ctattgaagc cacctgctca ggacaatgaa attcttcagt tacattctgg tttatcgccg	60
atctctcttc gtggttttca ctgtgttggt tttactacct ctgcccacac tcctccacac	120
caaggaagca gaatgtgcct acacactctt tgtggtcgcc acattttggc tcacagaagc	180
attgcctctg tcggtaacag ctttgctacc tagtttaatg ttacccatgt ttgggatcat	240
gccttctaag aaggtggcat ctgcttattt caaggatttt cacttactgc taattggagt	300
tatctgttta gcaacatcca tagaaaaatg gaatttgcac aagagaattg ctctgaaaat	360
ggtgatgatg gttggtgtaa atcctgcatg gctgacgctg gggttcatga gcagcactgc	420
ctttttgtct atgtggctca gcaacacctc gacggctgcc atgggtgatgc ccattgcgga	480
ggctgtagtg cagcagatca tcaatgcaga agcagaggtc gaggccactc agatgactta	540
cttcaacgga tcaaccaacc acggactaga aattgatgaa agtggttaatg gacatgaaat	600
aaatgagagg aaagagaaaa caaaaccagt tccaggatac aataatgata cagggaaaat	660

ttcaagcaag gtggagttgg aaaagaactc aggcattgaga accaaatattc gaacaaagaa 720  
gggccacgtg acacgtaaac ttacgtgttt gtgcattgcc tactcttcta ccattggtgg 780  
actgacaaca atcactggta cctccacca cttgatcttt gcagagtatt tcaatacacg 840  
ctatcctgac tgtcgttgcc tcaactttgg atcatggttt acgttttctt tcccagctgc 900  
ccttatcatt ctactcttat cctggatctg gcttcagtgg cttttcctag gattcaattt 960  
taaggagatg ttcaaagtgt gcaaaaccaa aacagtccaa caaaaagctt gtgctgaggt 1020  
gattaagcaa gaataccaaa agcttgggcc aataaggat caagaaattg tgaccttggt 1080  
cctcttcatt ataatggctc tgctatgggt tagtcgagac cccggatttg ttcctgggtg 1140  
gtctgcactt ttttcagagt accctgggtt tgctacagat tcaactgttg ctttacttat 1200  
gggctgcta ttctttctta tcccagctaa gacactgact aaaactacac ctacaggaga 1260  
aattgttgct ttgattact ctccactgat tacttggaag gaattccagt cattcatgcc 1320  
ctgggatata gccattcttg ttggtggagg gtttgccctg gcagatgggt gtgaggagtc 1380  
tggattatct aagtggatag gaaataaatt atctcctctg ggttcattac cagcatggct 1440  
aataattctg atatcttctt tgatggtgac atctttaact gaggtagcca gcaatccagc 1500  
taccattaca ctctttctcc caatattatc tccattggcc gaagccattc atgtgaaccc 1560  
tctttatatt ctgatacctt ctactctgtg tacttcattt gcattcctcc taccagtagc 1620  
aatccaccc aatgctattg tcttttcata tggcatctg aaagtcattg acatggttaa 1680  
agctggactt ggtgtcaaca ttggtgggtg tgctgtgggt atgcttgga tatgtacttg 1740  
gattgtaccc atgtttgacc tctacactta cccttcgtgg gctcctgcta tgagtaatga 1800  
gaccatgcca taataagcac aaaatttctg actatcttgc ggtaatttct ggaagacatt 1860  
aatgattgac tgtaaaatgt ggctctaaat aactaatgac acacatttaa atcagttatg 1920  
gtgtagctgc tgcaattccc gtgaataccc gaaacctgct ggtataactc agagtccata 1980  
tttgttattg cagtgcact aaagagcatc tatgtgcctt catcaagaag cccatgtttt 2040  
gagattttgc tcatgaacca tctgcaactt gcttcatcat aagaataatt tataacttga 2100  
ccttcaaaga gattagagca tttgtttcat cttacagtgt gagttcaatg taacatttta 2160  
aatgcaattt attatttcag aaatttccca tgaaactaaa aatagaaaat aagatataca 2220  
agttaattcg gtacttggat aaatcatttc tgcattgttg ttccagagaa tttgctgaga 2280  
aatcaaagcc atggtcatct ggtgatgaag agaaaagggt aatctaaatg atatgtgcat 2340  
ttcctcattt aaaaaatcca attggattat tcttaataata tacatgtaat atgaaaattg 2400  
agattgaagc actaattcca aaattatggc tgaatatact aaataacaga aaagttacag 2460  
ataagaattt atttctactg aactctatag ttagtgtaat ataattcata tttttatgat 2520  
attggcacac tgagaaattc atttttaga gctatggata aggcttgcta tgatttgcac 2580  
tattagtaca gtatagttag aaaggaaagc tgaacactat aaaactatta acatattttc 2640  
gtatatgagt aacaactttg ctttaagtgt tatcttagtt cagaaatata taatgtcata 2700



tgttaaaaat	aaagagatgt	agaaatctaa	atgaattatc	actgtgtata	cagacagaaa	2760
aatcacataa	ctctggtgtg	ttaacattgc	aatgaaaaaa	tgaaaaaaag	aaggaaaaaa	2820
gaataagaat	gaaaactgct	gacgtattac	aaaacagaaa	aataaatgat	ttaaaatcaa	2880
atcaaaaaga	aaaaaactaa	acattttaac	aaaaatggga	taagaatagt	cttctagaag	2940
tgaggatgcg	taaaagaatg	agtttccaat	taccctgatg	tgacaattac	acattgtaga	3000
caggtagcaa	aatatcacat	acacccccaa	aatatgtaca	aatattatat	atcaataaat	3060
aaatTTTTaa	agagtaagt	ctattggcat	tccaaaattc	agctaaagga	aaaatgatca	3120
aaaacaaagt	aaggtgcaca	gtagcaaaa	gatgcagatg	ttatatcaca	gcaattctca	3180
tgctaaaaat	acaacaaaag	acaaagcaaa	aaataaacct	ttgctTTTTt	TTTTTTTTt	3240
TTTTTTTTt	gagacggagt	ctcgctctgt	cgcccaggct	ggagtgcagt	ggcgggatct	3300
cggctcactg	caagctccgc	ctcccagggt	cacgccattc	tcctgcctca	gccaaacctt	3360
tgctatTTTT	aatcttcggt	ggcactttcc	agctgttact	gaccttgtca	TTTTTgttc	3420
aaataagatt	atttacaac	ttattcttga	aactaaatat	agtaaagagg	gtttttaaaa	3480
taatatttaa	catacgaatt	attaattggc	catgttcatt	atttatctat	gtttattaat	3540
gggccaatgc	aaaaaatcat	TTTTTcaaag	aaaaatttgt	ccatgtaaag	cttaaattat	3600
aatattgctg	ctttgtataa	ctcttctatg	tttattctat	tcatttgttc	ctttccctac	3660
catatTTTtac	acatgtatTT	ataatctgta	gtatttatta	catttctgct	TTTTTctagt	3720
cattcaatTT	atcactgctg	aattgcatca	gatcatggat	gcattTTTtat	tatgaaaaaa	3780
taaaatgact	tttcaaatta	aaaaaaaaaa	aaaa			3814

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 734

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 42

caggacaatg	aaattcttca	gttacattct	ggtttatcgc	cgatttctct	tcgtggTTTT	60
cactgtgttg	gttttactac	ctctgcccat	cgctctccac	accaaggaag	cagaatgtgc	120
ctacacactc	tttgtggtcg	ccacattttg	gctcacagaa	gcattgcctc	tgtcggtaac	180
agctttgcta	cctagtTTaa	tgttacccat	gtttgggatc	atgccttcta	agaagggtggc	240
atctgcttat	ttcaaggatt	ttcacttact	gctaattgga	gttatctggt	tagcaacatc	300
catagaaaaa	tggaaTTTgc	acaagagaat	tgctctgaaa	atgggtgatga	tggttgggtgt	360
aaatcctgca	tggctgacgc	tggggttcat	gagcagcact	gcctTTTTgt	ctatgtggct	420
cagcaacacc	tcgacggctg	ccatgggtgat	gccatttgcg	gaggctgtag	tgcagcagat	480
catcaatgca	gaagcagagg	tcgaggccac	tcagatgact	tacttcaacg	gatcaaccaa	540

ccacggacta gaaattgatg aaagtgttaa tggacatgaa ataaatgaga ggaaagagaa 600  
 aacaaaacca gttccaggat acaataatga tacagggaaa atttcaagca aggtggagtt 660  
 ggaaaagact gtttaactac tgaaatgaag ctattctcct gactaaacat aactgaaaaa 720  
 ccattcatta aatg 734

<210> 43

<211> 539

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 43

gccactcaga tgacttactt caacggatca accaaccacg gactagaaat tgatgaaagt 60  
 gttaatggac atgaaataaa tgagaggaaa gagaaaacaa aaccagttcc aggatacaat 120  
 aatgatacag ggaaaatttc aagcaagggtg gagttggaaa agcactggaa acttgcagtt 180  
 caagatggct ccccatctcc ctctgtccat tctgtatcgc agctagctgc tcaaggaaag 240  
 gagaaagtgg aaggcatatg tacttagaaa ttattctatt actttcctgg atttaagagt 300  
 attcagattt tctattttcaa catcaaacaa ttgcattttt aaaaagaaat ttatgtgttc 360  
 catgtcaaat ttagtagtgt gtggttgttt ataatatatt cttatatcta ctttaatttct 420  
 atagtattta tagttatatg tctttatttc taacattttt cttgtgcttt taaagattat 480  
 ttaaagatta tttttaaata atctttattt catttaaata aaatatttta ttttaagtct 539

<210> 44

<211> 556

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 44

cacggactag aaattgatga aagtgttaat ggacatgaaa taaatgagag gaaagagaaa 60  
 acaaaaccag ttccaggata caataatgat acagggaaaa tttcaagcaa ggtggagttg 120  
 gaaaagaact caggcatgag aaccaaatat cgaacaaaga agggccacgt gacacgtaaa 180  
 cttacgtgtt tgtgcattgc ctactcttct accattgggtg gactgacaac aatcactggt 240  
 acctccacca acttgatctt tgcagagtat ttcaatacat tccatccaca cagaagagga 300  
 gatcgtacaa ggcatgtaca ccaggaggca gaaatttgag gcatatcttg gaactctgtc 360  
 taccacatcc tgaacatcac acagtttcca ctcttggtgc cttcaatcct gagaatgcat 420  
 ccaggagcca ttctgtttta tgtcaattac taattagatc atgtcacgtt actaacttac 480  
 tacgttccaa ttagtcctta ttgcatttgt aataaaatcc gcatactttc ggactggcta 540

caaggttata catgat

556

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 595

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 45

Met Lys Phe Phe Ser Tyr Ile Leu Val Tyr Arg Arg Phe Leu Phe Val  
 1 5 10 15

Val Phe Thr Val Leu Val Leu Leu Pro Leu Pro Ile Val Leu His Thr  
 20 25 30

Lys Glu Ala Glu Cys Ala Tyr Thr Leu Phe Val Val Ala Thr Phe Trp  
 35 40 45

Leu Thr Glu Ala Leu Pro Leu Ser Val Thr Ala Leu Leu Pro Ser Leu  
 50 55 60

Met Leu Pro Met Phe Gly Ile Met Pro Ser Lys Lys Val Ala Ser Ala  
 65 70 75 80

Tyr Phe Lys Asp Phe His Leu Leu Leu Ile Gly Val Ile Cys Leu Ala  
 85 90 95

Thr Ser Ile Glu Lys Trp Asn Leu His Lys Arg Ile Ala Leu Lys Met  
 100 105 110

Val Met Met Val Gly Val Asn Pro Ala Trp Leu Thr Leu Gly Phe Met  
 115 120 125

Ser Ser Thr Ala Phe Leu Ser Met Trp Leu Ser Asn Thr Ser Thr Ala  
 130 135 140

Ala Met Val Met Pro Ile Ala Glu Ala Val Val Gln Gln Ile Ile Asn  
 145 150 155 160

Ala Glu Ala Glu Val Glu Ala Thr Gln Met Thr Tyr Phe Asn Gly Ser  
 165 170 175

Thr Asn His Gly Leu Glu Ile Asp Glu Ser Val Asn Gly His Glu Ile  
 180 185 190

Asn Glu Arg Lys Glu Lys Thr Lys Pro Val Pro Gly Tyr Asn Asn Asp  
 195 200 205

Thr Gly Lys Ile Ser Ser Lys Val Glu Leu Glu Lys Asn Ser Gly Met  
 210 215 220

Arg Thr Lys Tyr Arg Thr Lys Lys Gly His Val Thr Arg Lys Leu Thr  
 225 230 235 240

Cys Leu Cys Ile Ala Tyr Ser Ser Thr Ile Gly Gly Leu Thr Thr Ile  
 245 250 255

Thr Gly Thr Ser Thr Asn Leu Ile Phe Ala Glu Tyr Phe Asn Thr Arg  
 260 265 270

Tyr Pro Asp Cys Arg Cys Leu Asn Phe Gly Ser Trp Phe Thr Phe Ser  
 275 280 285

Phe Pro Ala Ala Leu Ile Ile Leu Leu Leu Ser Trp Ile Trp Leu Gln  
 290 295 300

Trp Leu Phe Leu Gly Phe Asn Phe Lys Glu Met Phe Lys Cys Gly Lys  
 305 310 315 320

Thr Lys Thr Val Gln Gln Lys Ala Cys Ala Glu Val Ile Lys Gln Glu  
 325 330 335

Tyr Gln Lys Leu Gly Pro Ile Arg Tyr Gln Glu Ile Val Thr Leu Val  
 340 345 350

Leu Phe Ile Ile Met Ala Leu Leu Trp Phe Ser Arg Asp Pro Gly Phe  
 355 360 365

Val Pro Gly Trp Ser Ala Leu Phe Ser Glu Tyr Pro Gly Phe Ala Thr  
 370 375 380

Asp Ser Thr Val Ala Leu Leu Ile Gly Leu Leu Phe Phe Leu Ile Pro  
 385 390 395 400

Ala Lys Thr Leu Thr Lys Thr Thr Pro Thr Gly Glu Ile Val Ala Phe  
 405 410 415

Asp Tyr Ser Pro Leu Ile Thr Trp Lys Glu Phe Gln Ser Phe Met Pro  
 420 425 430

Trp Asp Ile Ala Ile Leu Val Gly Gly Gly Phe Ala Leu Ala Asp Gly  
 435 440 445

Cys Glu Glu Ser Gly Leu Ser Lys Trp Ile Gly Asn Lys Leu Ser Pro  
 450 455 460

Leu Gly Ser Leu Pro Ala Trp Leu Ile Ile Leu Ile Ser Ser Leu Met  
 465 470 475 480

Val Thr Ser Leu Thr Glu Val Ala Ser Asn Pro Ala Thr Ile Thr Leu  
485 490 495

Phe Leu Pro Ile Leu Ser Pro Leu Ala Glu Ala Ile His Val Asn Pro  
500 505 510

Leu Tyr Ile Leu Ile Pro Ser Thr Leu Cys Thr Ser Phe Ala Phe Leu  
515 520 525

Leu Pro Val Ala Asn Pro Pro Asn Ala Ile Val Phe Ser Tyr Gly His  
530 535 540

Leu Lys Val Ile Asp Met Val Lys Ala Gly Leu Gly Val Asn Ile Val  
545 550 555 560

Gly Val Ala Val Val Met Leu Gly Ile Cys Thr Trp Ile Val Pro Met  
565 570 575

Phe Asp Leu Tyr Thr Tyr Pro Ser Trp Ala Pro Ala Met Ser Asn Glu  
580 585 590

Thr Met Pro  
595

<210> 46

<211> 224

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Arg Thr Met Lys Phe Phe Ser Tyr Ile Leu Val Tyr Arg Arg Phe Leu  
1 5 10 15

Phe Val Val Phe Thr Val Leu Val Leu Leu Pro Leu Pro Ile Val Leu  
20 25 30

His Thr Lys Glu Ala Glu Cys Ala Tyr Thr Leu Phe Val Val Ala Thr  
35 40 45

Phe Trp Leu Thr Glu Ala Leu Pro Leu Ser Val Thr Ala Leu Leu Pro  
50 55 60

Ser Leu Met Leu Pro Met Phe Gly Ile Met Pro Ser Lys Lys Val Ala  
65 70 75 80

Ser Ala Tyr Phe Lys Asp Phe His Leu Leu Leu Ile Gly Val Ile Cys  
85 90 95

Leu Ala Thr Ser Ile Glu Lys Trp Asn Leu His Lys Arg Ile Ala Leu  
 100 105 110

Lys Met Val Met Met Val Gly Val Asn Pro Ala Trp Leu Thr Leu Gly  
 115 120 125

Phe Met Ser Ser Thr Ala Phe Leu Ser Met Trp Leu Ser Asn Thr Ser  
 130 135 140

Thr Ala Ala Met Val Met Pro Ile Ala Glu Ala Val Val Gln Gln Ile  
 145 150 155 160

Ile Asn Ala Glu Ala Glu Val Glu Ala Thr Gln Met Thr Tyr Phe Asn  
 165 170 175

Gly Ser Thr Asn His Gly Leu Glu Ile Asp Glu Ser Val Asn Gly His  
 180 185 190

Glu Ile Asn Glu Arg Lys Glu Lys Thr Lys Pro Val Pro Gly Tyr Asn  
 195 200 205

Asn Asp Thr Gly Lys Ile Ser Ser Lys Val Glu Leu Glu Lys Thr Val  
 210 215 220

<210> 47

<211> 88

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Ala Thr Gln Met Thr Tyr Phe Asn Gly Ser Thr Asn His Gly Leu Glu  
 1 5 10 15

Ile Asp Glu Ser Val Asn Gly His Glu Ile Asn Glu Arg Lys Glu Lys  
 20 25 30

Thr Lys Pro Val Pro Gly Tyr Asn Asn Asp Thr Gly Lys Ile Ser Ser  
 35 40 45

Lys Val Glu Leu Glu Lys His Trp Lys Leu Ala Val Gln Asp Gly Ser  
 50 55 60

Pro Ser Pro Ser Val His Ser Val Ser Gln Leu Ala Ala Gln Gly Lys  
 65 70 75 80

Glu Lys Val Glu Gly Ile Cys Thr  
 85

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 48

His Gly Leu Glu Ile Asp Glu Ser Val Asn Gly His Glu Ile Asn Glu  
 1 5 10 15

Arg Lys Glu Lys Thr Lys Pro Val Pro Gly Tyr Asn Asn Asp Thr Gly  
 20 25 30

Lys Ile Ser Ser Lys Val Glu Leu Glu Lys Asn Ser Gly Met Arg Thr  
 35 40 45

Lys Tyr Arg Thr Lys Lys Gly His Val Thr Arg Lys Leu Thr Cys Leu  
 50 55 60

Cys Ile Ala Tyr Ser Ser Thr Ile Gly Gly Leu Thr Thr Ile Thr Gly  
 65 70 75 80

Thr Ser Thr Asn Leu Ile Phe Ala Glu Tyr Phe Asn Thr Phe His Pro  
 85 90 95

His Arg Arg Gly Asp Arg Thr Arg His Val His Gln Glu Ala Glu Ile  
 100 105 110

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

&lt;400&gt; 49

ccagctttaa ccatgtcaat g

21

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 50  
cagatggttg tgaggagtct g 21

<210> 51

<211> 3311

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 51  
tgctaattgct tttggtacaa atggatgtgg aatataattg aatattttct tgtttaaggg 60  
gagcatgaag aggtgttgag gttatgtcaa gcatctggca cagctgaagg cagatggaaa 120  
tatttacaag tacgcaattt gagactaaga tattgttatc attctcctat tgaagacaag 180  
agcaatagta aaacacatca ggtcaggggg ttaaagacct gtgataaacc acttccgata 240  
agttggaaac gtgtgtctat attttcatat ctgtatatat ataatggtaa agaaagacac 300  
cttcgtaacc cgcattttcc aaagagagga atcacaggga gatgtacagc aatggggcca 360  
tttaagagtt ctgtgttcat cttgattctt caccttctag aaggggccct gagtaattca 420  
ctcattcagc tgaacaacaa tggctatgaa ggcatgtcg ttgcaatcga ccccaatgtg 480  
ccagaagatg aaacactcat tcaacaaata aaggacatgg tgaccaggc atctctgtat 540  
ctgtttgaag ctacaggaaa gcgattttat ttcaaaaatg ttgccatttt gattcctgaa 600  
acatggaaga caaaggctga ctatgtgaga ccaaaacttg agacctacaa aaatgctgat 660  
gttctggttg ctgagtctac tcctccaggt aatgatgaac cctacactga gcagatgggc 720  
aactgtggag agaaggggtga aaggatccac ctcaactctg atttcattgc aggaaaaaag 780  
ttagctgaat atggaccaca aggtaaggca tttgtccatg agtgggctca tctacgatgg 840  
ggagtatttg acgagtacaa taatgatgag aaattctact tatccaatgg aagaatacaa 900  
gcagtaagat gttcagcagg tattactggt acaaatgtag taaagaagtg tcaggagggc 960  
agctgttaca ccaaagatg cacattcaat aaagttacag gactctatga aaaaggatgt 1020  
gagtttggtt tccaatcccg ccagacggag aaggcttcta taatgtttgc acaacatggt 1080  
gattctatag ttgaattctg tacagaacaa aaccacaaca aagaagctcc aaacaagcaa 1140  
aatcaaaaat gcaatctccg aagcacatgg gaagtgatcc gtgattctga ggactttaag 1200  
aaaaccactc ctatgacaac acagccacca aatcccacct tctcattgct gcagattgga 1260  
caaagaattg tgtgttttagt ccttgacaaa tctggaagca tggcgactgg taaccgcctc 1320  
aatcgactga atcaagcagg ccagcttttc ctgctgcaga cagttgagct ggggtcctgg 1380  
gttgggatgg tgacatttga cagtgtgcc catgtacaaa gtgaactcat acagataaac 1440  
agtggcagtg acagggacac actcgccaaa agattacctg cagcagcttc aggagggacg 1500



tccatctgca gcgggcttcg atcggcattt actgtgatta ggaagaaata tccaactgat 1560  
ggatctgaaa ttgtgctgct gacggatggg gaagacaaca ctataagtgg gtgctttaac 1620  
gagggtcaaac aaagtgggtgc catcatccac acagtcgctt tggggccctc tgcagctcaa 1680  
gaactagagg agctgtccaa aatgacagga ggtttacaga catatgcttc agatcaagtt 1740  
cagaacaatg gcctcattga tgcttttggg gccctttcat caggaaatgg agctgtctct 1800  
cagcgtcca tccagcttga gagtaaggga ttaaccctcc agaacagcca gtggatgaat 1860  
ggcacagtga tcgtggacag caccgtggga aaggacactt tgtttcttat cacctggaca 1920  
acgcagcctc cccaaatcct tctctgggat ccagtgaggc agaagcaagg tggctttgta 1980  
gtggacaaaa acacaaaaat ggcctacctc caaatcccag gcattgctaa ggttggcact 2040  
tggaataca gtctgcaagc aagctcaca accttgaccc tgactgtcac gtcccgtgcg 2100  
tccaatgcta ccctgcctcc aattacagtg acttccaaaa cgaacaagga caccagcaaa 2160  
ttccccagcc ctctggtagt ttatgcaaat attcgccaag gagcctcccc aattctcagg 2220  
gccagtgtca cagccctgat tgaatcagtg aatggaaaaa cagttacctt ggaactactg 2280  
gataatggag caggtgctga tgctactaag gatgacggtg tctactcaag gtatttcaca 2340  
acttatgaca cgaatggtag atacagtgtg aaagtgcggg ctctgggagg agttaacgca 2400  
gccagacgga gagtgatacc ccagcagagt ggagcactgt acatacctgg ctggattgag 2460  
aatgatgaaa tacaatggaa tccaccaaga cctgaaatta ataaggatga tgttcaacac 2520  
aagcaagtgt gtttcagcag aacatcctcg ggaggctcat ttgtggcttc tgatgtccca 2580  
aatgtccca tacctgatct cttccacact ggccaaatca ccgacctgaa ggcggaaatt 2640  
cacgggggca gtctcattaa tctgacttgg acagctcctg gggatgatta tgaccatgga 2700  
acagctcaca agtatatcat tcgaataagt acaagtattc ttgatctcag agacaagttc 2760  
aatgaatctc ttcaagtga tactactgct ctcaccccaa aggaagccaa ctctgaggaa 2820  
gtctttttgt ttaaaccaga aaacattact tttgaaaatg gcacagatct tttcattgct 2880  
attcaggctg ttgataaggt cgatctgaaa tcagaaatat ccaacattgc acgagtatct 2940  
ttgtttattc ctccacagac tccgccagag acacctagtc ctgatgaaac gtctgctcct 3000  
tgtcctaata ttcatatcaa cagcaccatt cctggcattc acattttaaa aattatgtgg 3060  
aagtggatag gagaactgca gctgtcaata gcctagggct gaatttttgt cagataaata 3120  
aaataaatca ttcatccttt ttttgattat aaaattttct aaaatgtatt ttagacttcc 3180  
tgtagggggc gatatactaa atgtatatag tacatttata ctaaatgtat tcctgtaggg 3240  
ggcgatatac taaatgtatt ttagacttcc tgtagggggc gataaaataa aatgctaaac 3300  
aactgggtaa a 3311

&lt;210&gt; 52

&lt;211&gt; 3067

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 52

aattaaatta	tgagaattaa	aaagacaaca	ttgagcagag	atgaaaaagg	aagggaggaa	60
aaggtgga	agaaaagaag	acaagaagcg	agtagtggtc	tctaacttgc	tctttgaagg	120
atggtctcac	aaagagaacc	ccaacagaca	tcatcgtggg	aatcaaata	agaccagcaa	180
gtacaccgtg	ttgtccttcg	tccccaaaa	catttttgag	cagctacacc	ggtttgccaa	240
tctctatttt	gtgggcattg	cggttctgaa	ttttatccct	gtggtcaatg	ctttccagcc	300
tgaggtgagc	atgataccaa	tctgtgttat	cctggcagtc	actgccatca	aggacgcttg	360
ggaagacctc	cggaggtaca	aatcggataa	agtcataaat	aaccgagagt	gcctcatcta	420
cagcagaaaa	gagcagacct	atgtgcagaa	gtgctggaag	gatgtgcgtg	tgggagactt	480
catccaaatg	aaatgcaatg	agattgtccc	agcagacata	ctcctccttt	tttcctctga	540
ccccaatggg	atatgccatc	tggaaactgc	cagcttgga	ggagagacaa	acctcaagca	600
aagacgtgtc	gtgaagggct	tctcacagca	ggaggtacag	ttcgaaccag	agcttttcca	660
caataccatc	gtgtgtgaga	aaccaacaa	ccacctcaac	aaatttaagg	gttatatgga	720
gcacctgac	cagaccagga	ctggcttttg	ctgtgagagt	cttctgcttc	gaggctgcac	780
catcagaaac	accgagatgg	ctggtggcat	tgtcatctat	gcaggccatg	agacgaaagc	840
catgctgaac	aacagtggcc	cccggataca	acgcagcaag	attgagcggc	gcatgaatat	900
agacatcttc	ttctgcattg	ggatcctcat	cctcatgtgc	cttattggag	ctgtaggtca	960
cagcatctgg	aatgggacct	ttgaagaaca	ccctcccttc	gatgtgccag	atgccaatgg	1020
cagcttcctt	cccagtggcc	ttgggggctt	ctacatgttc	ctcacaatga	tcatcctgct	1080
ccaggtgctg	atccccatct	ctttgtatgt	ctccattgag	ctgggtgaagc	tcgggcaagt	1140
gttcttcttg	agcaatgacc	ttgacctgta	tgatgaagag	accgatttat	ccattcaatg	1200
tcgagccctc	aacatcgag	aggacttggg	ccagatccag	tacatcttct	ccgataagac	1260
ggggaccctg	acagagaaca	agatggtgtt	ccgacgttgc	accatcatgg	gcagcgagta	1320
ttctcaccaa	gaaaatggta	tagaagctcc	caagggctcc	atccctcttt	ctaaaaggaa	1380
ataccctgct	ctcctaagaa	acgaggagat	aaaagacatt	ctcctggctc	tcttagaggc	1440
tgtgtggcat	ttccacaagt	tgcttcctgt	atccctgtgg	tcttccttgt	cacagatcag	1500
ggctgttcca	attacttgta	aactttcatt	tgtttacaaa	ggttagaagt	tatcccatat	1560
gtggttcccc	ttcagctgat	ctttgtctgg	tgccagacaa	agcatttat	gagacgagtt	1620
ttttatctgt	cagcaatgga	ttggagacat	ttcccaattg	tgtgccagtc	acacaaccaa	1680
ggcttaggaa	tttctcaggc	caccttacct	gacatgtcag	ggcaggtctg	tgtctaggtg	1740
catggtcaga	tttaatacat	ccagaagatg	tcttctattc	taacagatct	cttagcttgt	1800
cactgaggca	aagttttgat	ttaggagata	gggctataaa	atgcctggac	tgttaccttg	1860

catggactga	atatgactca	taaaactgat	ctgattcctt	cagccatcat	ctgcccact	1920
tggttcccct	ccccacccc	ccacaacaca	cacacacact	ttctaagaaa	agaaaagaaa	1980
ttcttttttt	tcaatacttt	aagttctggg	atacatgtgc	agaatgtgca	ggtttggttac	2040
ataggtatac	atgtgtcatg	gtggtttgca	gcacccacca	acccatcatc	taccttaggt	2100
atttctccta	atgctatccc	tcccctagcc	cccaaccccc	cgatgggctc	cagtgtgtga	2160
tgttcccctc	catgtccatg	tgttctcatt	gttcaattcc	cacttatgag	tgagaacatg	2220
cagtatttgg	ttttctgttc	ttgtgttagt	ttgctgatgg	tttcctgttc	atccgtgtcc	2280
ctgcaaagga	catgaactca	tcctttttta	tggctgcata	atattccatg	gtgtatatgt	2340
gccacatttt	ctttatccag	tctatcgctg	atgggcactg	gggttggttc	caagtctttg	2400
ctattgtgaa	cagtgtgtga	ataaacttac	atgtgcatgt	gtcttttagta	gaatgattta	2460
taatcctttg	ggtatatacc	cagtaatggg	attgctgggc	aaatgggtatt	tctggttcta	2520
gacccctgag	gaatctttgt	cttcacacat	ggttgaacta	atttgacttc	ccaccaacag	2580
tgtaaaagta	ttcctgtttc	tctacatcct	cttcagcatc	tgttgtgtcc	tgacatttta	2640
atgatcacta	ttctcactgg	cgtgagatgt	tatctcattg	tggttttgat	ttgcatttct	2700
ctaatgacca	gtaatgatga	gctttttttc	atatgtttgt	tggctgcata	aatgtcttct	2760
tttgagaagt	gtctgttcat	atccttcacc	cattttttga	agaaaacaaa	ctcttaagag	2820
agcagtattc	attcttttga	gtgtgagggg	tggagaaaga	gaaagatgga	gagagtatta	2880
taagcagctg	tatccccctt	gccatggtga	tagcagacca	ttcacatggg	agcttctggt	2940
ctctttgtaa	taataataag	agccacatta	ccagtactta	gagtatgcta	gttattttta	3000
acattgtat	cattaaatct	tcaaaacatc	cctatgagtt	agaaaccta	aaaaaaaaa	3060
aaaaaaa						3067

&lt;210&gt; 53

&lt;211&gt; 2778

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 53

ctcattttga	tgtctagaat	caggggatcc	aggatcatca	ccaaggatcat	tttcccaggt	60
atggaggggt	ctttctgctt	ctttcttgct	atgcacagct	gctgaggaag	gggctgggag	120
taaagacagt	gaaatgggga	ggaggagtcc	attcaaaccg	agaaacaaag	tgtttggttt	180
ttcttaccct	tggtgtagaa	gctaccaacc	ttttccaaga	aagagggcct	ggcccccttc	240
tcgggtctgg	ctgggtgcct	gctgtgcctc	tctggcctcc	cctccgaagg	gcaccattcc	300
ctcgggtgag	tactaccggc	ctgcaccgtc	ttccagtggg	gacagcctga	gaagagagtc	360
tggggcctta	cttcagtacc	ttccttcact	ggcctcaccc	tgtgcaaata	atgccacacg	420

ctgcagcctc	cttttcccta	tctataaaat	aaaaatgacc	ctgctctatc	tcactgggct	480
ggcaagaaca	cactgttggt	gccttgacaga	cagatgtgct	gaggctgtag	aaagtgcttt	540
ttatttggtt	gggagcttgt	gcataaatgc	gagaggggct	gcacatctga	cggactagag	600
gtgactcatg	gctgaaccgg	aacaggacat	cggggagaag	ccagcagcca	tgctgaactc	660
tccacagggc	cctgtgaaaa	gctcttcacc	tcctctgccc	tctggatcta	gtgaagccta	720
ttcatccttc	agatgtcagc	tcaaataatc	aaccttcatg	gaggcctccc	ttgaccacct	780
acatgctttc	aaagtactgt	gtatttcaca	ttcatcatgc	cccgacaact	gtgattttccc	840
atttattaat	atctgtctct	tctgctggcc	tgcaaaactcc	aggagcacag	agacatcttt	900
gggatttttg	aacatgattt	ccccagggct	tagcccagtg	cctgggtgcaa	agcaggcttt	960
caacatgttc	agtggatatt	gtaagaaaga	aagaaataca	caaaaggcct	ggcatatgca	1020
aagcactcta	aatattcact	cctttccctt	ccctctgggt	gagaaaattt	ctccttataa	1080
agacaccctc	ctaactgtat	ctctgctaga	gaactgaaga	cataaagcac	tctgtgccaa	1140
aaatatttaa	gtaaaaactt	gagctaagca	cagagattat	aaatatttct	tccccagatt	1200
acgcaccatt	taaaaatact	gtctcagctc	cttttcatga	tttgggtggg	gattaaagaa	1260
aattactctt	caagactgaa	agtcattact	gcccttttcc	tgacttgctt	tttcccttga	1320
gaaggggagg	ataagctgca	gggcaggaag	tggaagtggg	gcctccttgt	cctttgtctg	1380
gcagacagcc	aactgggtcag	gtactgctcc	ttctcaactc	tttcctgatt	cccagggtgaa	1440
tataaacaag	aaggcacaaa	tccacacttg	ccaacaacgg	accaagtga	taacaagaaa	1500
cccagtgaca	cctgtctagg	tgaagactca	gcccctatgt	gaccagggtg	caaagccaaa	1560
ctgaccatct	gctttccatt	tggactttta	gttcatactg	tatcttctca	ggacagttaa	1620
gttgggaatac	aatgccactg	tcctgaaaga	tggtagaatt	atcctatttc	tggaggagtg	1680
ggggtgggtg	gtaggaatct	caagagcgat	ttgctcctct	gcacaatagc	ttctttaagg	1740
acaccagggc	ccccagggct	atacatttcc	ctgaagcttt	ccagataagc	aacaagggtat	1800
gagcacctgc	tatgtattgc	ccaaggggtga	tgtgtttaaa	tatccattgc	atattttaaa	1860
tccttggtcg	gcttaaagct	gcaagctttc	tgtcttcagt	ggatataatg	ggggcataca	1920
tcccagagct	tgcccaacac	tccaagaaaa	gaaccctcag	ctaattgcaa	gtgtgtatgt	1980
gcccatgaaa	gctccatgtc	tacttaacat	tcagttttta	ggattattta	tgctgtaata	2040
atagatatga	aaatctctga	caggatattt	gtttccttta	caaactgtat	ttgaatttat	2100
gggtgattta	gagcttgtgt	ttaaagtcag	aattcagaac	cccaaagaaa	atgacttcat	2160
tgaaattgaa	ctgaagagac	aagaactgag	ttaccaaacc	ctactaaacg	tgagttgctg	2220
tgaactgggg	attaaaccag	aacgagtgga	gaagatcaga	aagctaccaa	acacactgct	2280
cagaaaggac	aaagacattc	gaagactgcg	ggactttcag	gaagtggaac	tcattttaat	2340
gaaaaatgga	agctccagat	tgacagaata	tgtgccatct	ctgacagaaa	ggccctgcta	2400
tgatagcaaa	gctgcaaaaa	tgacttatta	aatactccca	ggaatggccg	cgcattgggtg	2460

ctcacccct gtaatcccag cactttggga agccaagggtg ggcggatcac ctgagggtcag	2520
gagttctaga ccagcctggc caacatatag tgaaaccag tctctactaa aaaaaataca	2580
aaaattagct aggtgtgggtg gcgcacacct gtagtagtcc cagctacatg ggaagctgag	2640
gcaggagaat cacctgaacc caggaggcag aggttgagct gagctgagat tgcgccactg	2700
cactccagcc tggcgacaga gcaagactct gtctctcaaa ataaataaat aaataaataa	2760
ataaataaat aaataatc	2778

&lt;210&gt; 54

&lt;211&gt; 1646

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 54

gcccgggaga ggagaggagc gggccgagga ctccagcgtg cccagggtctg gcatcctgca	60
cttgctgccc tctgacacct ggggaagatgg ccggcccgtg gaccttcacc cttctctgtg	120
gtttgctggc agccaccttg atccaagcca ccctcagtc cactgcagtt ctcacccctg	180
gccccaaagt catcaaagaa aagctgacac aggagctgaa ggaccacaac gccaccagca	240
tcctgcagca gctgccgctg ctgagtgcca tgcgggaaaa gccagccgga ggcacccctg	300
tgctgggcag cctggtgaac accgtcctga agcacatcat ctgggtgaag gtcacacag	360
ctaacatcct ccagctgcag gtgaagccct cggccaatga ccaggagctg ctagtcaaga	420
tccccctgga catggtggct ggattcaaca cggccctggt caagaccatc gtggagttcc	480
acatgacgac tgaggcccaa gccaccatcc gcatggacac cagtgaaggt ggccccaccc	540
gcctggtcct cagtgactgt gccaccagcc atgggagcct gcgcattcaa ctgctgcata	600
agctctcctt cctggtgaac gccttagcta agcaggtcat gaacctccta gtgccatccc	660
tgcccaatct agtgaaaaac cagctgtgtc ccgtgatcga ggcttccttc aatggcatgt	720
atgcagacct cctgcagctg gtgaagggtg ccatttcctt cagcattgac cgtctggagt	780
ttgaccttct gtatcctgcc atcaagggtg acaccattca gctctacctg ggggccaagt	840
tgttggactc acagggaag gtgaccaagt ggttcaataa ctctgcagct tccctgacaa	900
tgcccaccct ggacaacatc ccgttcagcc tcacgtgag tcaggacgtg gtgaaagctg	960
cagtggctgc tgtgctctct ccagaagaat tcattggtcct gttggactct gtgcttcctg	1020
agagtgccca tcggctgaag tcaagcatcg ggctgatcaa tgaaaaggct gcagataagc	1080
tgggatctac ccagatcgtg aagatcctaa ctcaggacac tcccagagttt tttatagacc	1140
aaggccatgc caagggtggc caactgatcg tgctggaagt gtttcctcc agtgaagccc	1200
tccgcccttt gttcacccctg ggcacgaag ccagctcgga agctcagttt tacaccaaag	1260
gtgaccaact tatactcaac ttgaataaca tcagctctga tcggatccag ctgatgaact	1320

ctgggattgg	ctggttccaa	cctgatgttc	tgaaaaacat	catcactgag	atcatccact	1380
ccatcctgct	gccgaaccag	aatggcaa	aat	taagatctgg	gggtcccagt	1440
aggccttggg	attcgaggca	gctgagtcct	cactgacca	ggatgccctt	gtgcttactc	1500
cagcctcctt	gtggaaaccc	agctctcctg	tctcccagt	aagacttgga	tggcagccat	1560
caggggaaggc	tgggtcccag	ctgggagtat	gggtgtgagc	tctatagacc	atccctctct	1620
gcaatcaata	aacacttgcc	tgtgat				1646

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 1049

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

<400> 55	
ggagtggggg	agagagagga gaccaggaca gctgctgaga cctctaagaa gtccagatac 60
taagagcaaa	gatgtttcaa actggggggc tcattgtctt ctacgggctg ttagcccaga 120
ccatggccca	gtttggaggc ctgcccgtgc ccctggacca gaccctgccc ttgaatgtga 180
atccagccct	gcccttgagt cccacaggtc ttgcaggaag cttgacaaat gccctcagca 240
atggcctgct	gtctgggggc ctggtgggca ttctggaaaa ccttccgctc ctggacatcc 300
tgaagcctgg	aggaggtact tctggtggcc tccttggggg actgcttgga aaagtgacgt 360
cagtgattcc	tggcctgaac aacatcattg acataaagggt cactgacccc cagctgctgg 420
acttggcct	tgtgcagagc cctgatggcc accgtctcta tgtcaccatc cctctcggca 480
taaagctcca	agtgaatacg cccctggctg gtgcaagtct gttgaggctg gctgtgaagc 540
tggacatcac	tgcagaaatc ttagctgtga gagataagca ggagaggatc cacctgggtcc 600
ttggtgactg	caccatttcc cctggaagcc tgcaaatttc tctgcttgat ggacttggcc 660
ccctcccat	tcaaggtctt ctggacagcc tcacagggat cttgaataaa gtcctgcctg 720
agttggttca	gggcaacgtg tgccctctgg tcaatgaggt tctcagaggc ttggacatca 780
ccctggtgca	tgacattgtt aacatgctga tccacggact acagtttgtc atcaaggtct 840
aagccttcca	ggaaggggct ggcctctgct gagctgcttc ccagtgtca cagatggctg 900
gcccattgtc	tgggaagatga cacagttgcc ttctctccga ggaacctgcc ccctctcctt 960
tcccaccagg	cggtgtgaac atcccatgtg cctcacctaa taaaatggct cttcttctgc 1020
aaaaaaaaa	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1049

&lt;210&gt; 56

&lt;211&gt; 4815

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 56

```

gagcagagcc ctttcacaca cctcaggaac acctttcggc tgcccgcctcc ccagacacac      60
ctgcagccct gccagccgg ctttgctcac ccactgcttg taaatgcccc agatatgagc      120
cagcccaggc cccgctacgt ggtagacaga gccgcatact cccttaccct cttcgacgat      180
gagtttgaga agaaggaccg gacataccca gtgggagaga aacttcgcaa tgccttcaga      240
tgttcctcag ccaagatcaa agctgtggtg tttgggctgc tgcctgtgct ctcttggtc      300
cccaagtaca agattaaaga ctacatcatt cctgacctgc tcggtggact cagcggggga      360
tccatccagg tcccacaagg catggcattt gctctgctgg ccaaccttcc tgcagtcaat      420
ggcctctact cctccttctt cccctctctg acctacttct tcctgggggg tggtcaccag      480
atggtgccag gtacctttgc cgttatcagc atcctggtgg gtaacatctg tctgcagctg      540
gccccagagt cgaaattcca ggtcttcaac aatgccacca atgagagcta tgtggacaca      600
gcagccatgg aggctgagag gctgcacgtg tcagctacgc tagcctgcct caccgccatc      660
atccagatgg gtctgggctt catgcagttt ggctttgtgg ccatctacct ctccgagtcc      720
ttcatccggg gcttcatgac ggccgccggc ctgcagatcc tgatttcggt gctcaagtac      780
atcttcggac tgaccatccc ctctacaca ggcccagggc ccatcgtctt taccttcatt      840
gacatttgca aaaacctccc ccacaccaac atcgccctgc tcattctcgc tctcatcagc      900
ggtgccttcc tgggtgctggt gaaggagctc aatgctcgct acatgcacaa gattcgcttc      960
cccatcccta cagagatgat tgtggtggtg gtggcaacag ctatctccgg gggctgtaag     1020
atgccccaaa agtatcacat gcagatcgtg ggagaaatcc aacgcggggt cccacccccg     1080
gtgtcgctg tgggtctaca gtggaaggac atgataggca cagccttctc cctagccatc     1140
gtgagctacg tcatcaacct ggctatgggc cggaccctgg ccaacaagca cggctacgac     1200
gtggattcga accaggagat gatcgctctc ggctgcagca acttctttgg ctcttctttt     1260
aaaattcatg tcatttgctg tgcgctttct gtcactctgg ctgtggatgg agctggagga     1320
aaatcccagg tggccagcct gtgtgtgtct ctggtggtga tgatcaccat gctggtcctg     1380
gggatctatc tgtatcctct ccctaagtct gtgctaggag ccctgatcgc tgtcaatctc     1440
aagaactccc tcaagcaact caccgacccc tactacctgt ggaggaagag caagctggac     1500
tgttgcatct gggtagttag ctctctctcc tccttcttcc tcagcctgcc ctatggtgtg     1560
gcagtgggtg tcgccttctc cgtcctggtc gtggtcttcc agactcagtt tcgaaatggc     1620
tatgcactgg ccaggtcat ggacactgac atttatgtga atcccaagac ctataatagg     1680
gcccaggata tccaggggat taaaatcatc acgtactgct cccctctcta ctttgccaac     1740
tcagagatct tcaggcaaaa ggtcatcgcc aagacaggca tggaccccca gaaagtatta     1800
ctagccaagc aaaaatacct caagaagcag gagaagcgga gaatgaggcc cacacaacag     1860
aggaggtctc tattcatgaa aaccaagact gtctccctgc aggagctgca gcaggacttt     1920

```

gagaatgCGC	CCCCaccga	CCCCaacaac	aaccagaccc	cggctaacgg	caccagcgtg	1980
tcctatatca	ccttcagccc	tgacagctcc	tcacctgccc	agagtGagcc	accagcctcc	2040
gctgaggccc	ccggcgagcc	cagtGacatg	ctggccagcg	tcccaccctt	cgtcaccttc	2100
cacaccctca	tcctggacat	gagtggagtc	agcttcgtgg	acttgatggg	catcaaggcc	2160
ctggccaagc	tgagctccac	ctatgggaag	atcggcgtga	aggtcttctt	ggtgaacatc	2220
catgcccagg	tgtacaatga	cattagccat	ggaggcgtct	ttgaggatgg	gagtctagaa	2280
tgcaagcacg	tctttccag	catacatgac	gcagtcctct	ttgcccaggc	aatgctaga	2340
gacgtgaccc	caggacacaa	cttccaaggg	gctccagggg	atgctgagct	ctccttgtag	2400
gactcagagg	aggacattcg	cagctactgg	gacttagagc	aggagatgtt	cgggagcatg	2460
cttcacgcag	agaccctgac	cgccctgtga	gggctcagcc	agtcctcatg	ctgcctacag	2520
agtgcctggc	acttgggact	tccataaagg	atgagcctgg	ggtcacaggg	ggtgtcgggc	2580
ggaggaaagt	gcattcccca	gagcttgggg	tcctctctcc	tctccccctc	tctcctccct	2640
tccttccctc	cccgcattct	cagagagagc	ctctcagcag	caggggggtg	ctacccttac	2700
gggagtgaga	gtctgggtgag	cccactcttc	accgcgcagg	ccctggccgc	aatggacaag	2760
cctcctgtct	actccacccc	accacatct	gccctgtcct	tggcagctga	aggacacctt	2820
gacttcagc	ttttacgagt	gagccaaaaa	cagaaggaca	agtacaactg	tgctggcctg	2880
ctgtacaagc	ttcaaaaagt	gtcccagagc	ccgcacggct	cgggtgtcaga	tgggtgtcagg	2940
ctgtcacgga	catagggata	aacttggtta	ggactctggc	ttgccttccc	cagctgcctc	3000
aactctgtct	ctggcagctc	tgcacccagg	gaccatgtgc	tctccacacc	caggagtcta	3060
ggccttggtta	actatgcgcc	ccccctccat	catccccaag	gctgccc aaa	ccaccactgc	3120
tgtcagcaag	cacatcagac	tctagcctgg	acagtggcca	ggaccgtcga	gaccaccaga	3180
gctacctccc	cggggacagc	ccactaaggt	tctgcctcag	cctcctgaaa	catcactgcc	3240
ctcagagggt	gtcccttccc	cctggagggt	ggctagaaac	cccaaagagg	gggatgggta	3300
gctggcagaa	tcatctggca	tcctagtaat	agataccagt	tattctgcac	aaaacttttg	3360
ggaattcctc	tttgaccca	gagactcaga	ggggaagagg	gtgctagtac	caacacaggg	3420
aaaacggatg	ggacctgggc	ccagacagtc	ccccttgacc	ccagggccca	tcagggaaat	3480
gcctcccttt	ggtaaatctg	ccttatcctt	ctttacctgg	caaagagcca	atcatgttaa	3540
ctcttcctta	tcagcctgtg	gcccagagac	acaatggggg	ccttctgtag	gcaaagggtg	3600
aagtcctcca	gggatccgct	acatcccccta	actgcatgca	gatgtggaaa	ggggctgatc	3660
cagattgggt	cttcctgcac	aggaagactc	tttaacaccc	ttaggacctc	aggccatctt	3720
ctcctatgaa	gatgaaaata	gggggttaagt	tttccatatg	tacaaggagg	tattgagagg	3780
aaccctactg	ttgacttgaa	aataaatagg	ttccatgtgt	aagtgttttg	taaaatttca	3840
gtggaaatgc	acagaaaatc	ttctggcctc	tcatcactgc	ttttctcaag	cttcttcagc	3900
ttaacaaccc	cttccttaac	aggttgggct	ggcccagcct	aggaaaacat	ccccatttct	3960



aacttcagcc agacctgcgt tgtgtgtctg tgtgttgagt gagctgggtca gctaacaagt 4020  
cttcttagag ttaaaggagg ggggtgctggc caagagccaa cacattcttg gccaggagc 4080  
attgcttttc tgtgaattca ttatgccatc tggctgccaa tggaaactcaa aacttggaag 4140  
gcgaaggaca atgttatctg ggattcaccg tgcccagcac ccgaagtgcc aaattccagg 4200  
aggacaagag ccttagccaa tgacaactca ctctccccta ctccacctcc ttccaagtcc 4260  
agctcaggcc caggaggtgg gagaagggtca cagagcctca ggaatttcca agtcagagtc 4320  
ccctttgaac caagtatcta gatccccctga ggacttgatg aagtgatcct taacccccaa 4380  
gtaatcatta acccccagac cagcctcaga actgaaggag attgttgacc cagtgcctg 4440  
gagttgaggc tcaggagag atctgccaca tgtctgaggg ttgcagagcc cgctgtggag 4500  
gtaagattgg aaacacatga ggcagagggg agacattgaa gaaaacatct ctgctggaat 4560  
atttgaaaaa gaacactctt ctggacctgg ttgaagcagg aaagatggag gcaaagtagt 4620  
gaaataatcc agaatttcaa tgcttttgaa tgttcttagt gatactgacc tgtgataata 4680  
taattcccag ggaggactgg gaaccttatc tcttgagata ttgcataat ttatttaatt 4740  
taagcctcat tctccttttg ttcatttttg taataaactg gatttgaatt gtgaacaaaa 4800  
aaaaaaaaa aaaaa 4815

<210> 57

<211> 2572

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 57  
aatgctctaa gacctctcag cacgggcgga agaaactccc ggagagctca cccaaaaaac 60  
aaggagatcc catctagatt tcttcttgct ttgactcac agctggaagt tagaaaagcc 120  
tcgatttcat ctttgagag gccaaatggc cttagcctca gtctctgtct ctaaataattc 180  
caccataaaa cagctgagtt atttatgaat tagaggctat agctcacatt ttcaatcctc 240  
tatttctttt tttaaatata actttctact ctgatgagag aatgtgggtt taatctctct 300  
ctcacatttt gatgatttag acagactccc cctcttctc ctagtcaata aaccattga 360  
tgatctattt cccagcttat cccaagaaa acttttgaaa ggaaagagta gacccaaaga 420  
tgttattttc tgctgtttga atttgtctc cccaccccca acttggttag taataaacac 480  
ttactgaaga agaagcaata agagaaagat atttgtaatc tctccagccc atgatctcgg 540  
ttttcttaca ctgtgatctt aaaagttacc aaaccaaggt cattttcagt ttgaggcaac 600  
caaacctttc tactgctgtt gacatcttct tattacagca acaccattct aggagtttc 660  
tgagctctcc actggagtcc tctttctgtc gcgggtcaga aattgtccct agatgaatga 720  
gaaaattatt ttttttaatt taagtcctaa atatagttaa aataaataat gttttagtaa 780

aatgatacac tatctctgtg aaatagcctc acccctacat gtggatagaa ggaaatgaaa 840  
aaataattgc tttgacattg tctatatggg actttgtaaa gtcattgctta agtacaaatt 900  
ccatgaaaag ctactgatac ctaattcttt ccctttgagg tctctatggc tctgattgta 960  
catgatagta agtgtaagcc atgtaaaaag taaataatgt ctgggcacag tggctcacgc 1020  
ctgtaatcct agcacttttg gaggctgagg aggaaggatc acttgagccc agaagttcga 1080  
gactagcctg ggcaacatgg agaagccctg tctctacaaa atacagagag aaaaaatcag 1140  
ccagtcattg tggcatacac ctgtagtccc agcattccgg gaggctgagg tgggaggatc 1200  
acttgagccc agggagggtg gggctgcagt gagccatgat cacaccactg cactccagcc 1260  
agggtgacata gcgagatcct gtctaaaaaa ataaaaaata aataatggaa cacagcaagt 1320  
ctaggaagt aggttaaaac taattcttta aaaaaaaaaa aaagttgagc ctgaattaaa 1380  
tgtaatgttt ccaagtgaca ggtatccaca tttgcatggg tacaagccac tgccagttgg 1440  
cagtagcact ttcctggcac tgtggtcggg tttgttttgt tttgctttgt ttagagacgg 1500  
ggtctcactt tccaggctgg cctcaaactc ctgcactcaa gcaattcttc taccctggcc 1560  
tccaagtag ctggaattac aggtgtgcgc catcacaact agctgggtgg cagttttgtt 1620  
actctgagag ctgttcactt ctctgaattc acctagagtg gttggaccat cagatgtttg 1680  
ggcaaaactg aaagctcttt gcaaccacac acctccctg agcttacatc actgcccttt 1740  
tgagcagaaa gtctaaattc cttccaagac agtagaattc catcccagta ccaaagccag 1800  
ataggccccc taggaaactg aggttaagagc agtctctaaa aactaccac agcagcattg 1860  
gtgcagggga acttggccat taggttatta tttgagagga aagtcctcac atcaatagta 1920  
atatgaaag tgacctcaa ggggattggg gaatactcat aaggatcttc aggctgaaca 1980  
gactatgtct ggggaaagaa cggattatgc ccattaaat aacaagttgt gttcaagagt 2040  
cagagcagtg agctcagagg cccttctcac tgagacagca acatttaaac caaaccagag 2100  
gaagtatttg tggaaactcac tgcctcagtt tgggtaaagg atgagcagac aagtcaacta 2160  
aagaaaaaag aaaagcaagg aggaggggtg agcaatctag agcatggagt ttgttaagtg 2220  
ctctctggat ttgagttgaa gagcatccat ttgagttgaa ggccacaggg cacaatgagc 2280  
tctcccttct accaccagaa agtccctggg cagggtctcag gtagtgcggg gtggctcagc 2340  
tgggttttta attagcgcat tctctatcca acatttaatt gtttgaaagc ctccatatag 2400  
ttagattgtg ctttgtaatt ttgttggtgt tgctctatct tattgtatat gcattgagta 2460  
ttaacctgaa tgttttgtta cttaaatatt aaaaacactg ttatcctaca aaaaaaccct 2520  
caaaggctga aaataaagaa ggaagatgga gacaccctct gggggtcctc tc 2572

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 1324

&lt;212&gt; DNA

## &lt;213&gt; Homo sapiens

<400> 58  
 ctttgcagtg gatgcccttg gcaggggtgag cccacaagga gcaatggagc agggcagcgg 60  
 ccgcttggag gacttccctg tcaatgtgtt ctccgtcact ccttacacac ccagcaccgc 120  
 tgacatccag gtgtccgatg atgacaaggc gggggccacc ttgctcttct caggcatctt 180  
 tctgggactg gtggggatca cattcactgt catgggctgg atcaaatacc aaggtgtctc 240  
 ccactttgaa tggaccagc tccttggggc cgtcctgctg tcagttgggg tgacattcat 300  
 cctgattgct gtgtgcaagt tcaaaatgct ctctgcccag ttgtgcaaag aaagtgagga 360  
 aagggtcccg gactcggaac agacaccagg aggaccatca tttgttttca ctggcatcaa 420  
 caacccatc accttccatg gggccactgt ggtgcagtac atccctcctc cttatggttc 480  
 tccagagcct atggggataa ataccagcta cctgcagtct gtggtgagcc cctgcggcct 540  
 cataacctct ggaggggagc cagccgccat gtcaagtcct cctcaatact acaccatcta 600  
 cctcaagat aactctgcat ttgtggttga tgagggtgc ctttctttca cggacggtgg 660  
 aaatcacagg cccaatcctg atgttgacca gctagaagag acacagctgg aagaggaggc 720  
 ctgtgcctgc ttctctcctc ccccttatga agaaatatac tctctccctc gctagaggct 780  
 attctgatat aataacacaa tgctcagctc agggagcaag tgtttccgtc attgttacct 840  
 gacaaccgtg gtgttctatg ttgtaacctt cagaagttac agcagcgccc aggcagcctg 900  
 acagagatca ttcaaggggg gaaaggggaa gtgggagggt caatttctca gattggtaaa 960  
 aattaggctg ggctggggaa attctcctcc ggaacagttt caaattccct cgggtaagaa 1020  
 tctcctgta taagggtcag gagcaggaat ttcacttttt catccaccac cctccccctt 1080  
 ctctgtagga aggcattggt ggctcaattt taaccccagc agccaatgga aaaatcacga 1140  
 cttctgagac tttgggagtt tccacagagg tgagagtcgg gtgggaagga agcagggaag 1200  
 agaaagcagg cccagctgga gatttctctg tggtgtcctt tggcccaaaa gcagactcac 1260  
 taatcccaaa caactcagct gccatctggc ctctctgagg actctgggta ccttaaagac 1320  
 tata 1324

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 683

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

<400> 59  
 caggaaagtt cgtgctgcta ggcagaggaa ctgcagcttg ttggcagggt aaggagcct 60  
 gtttagctgt gtccagcaac aacttacgtg gtcctgcttg tgttccagggt gaagcgtctg 120  
 gccgccgagc agaggaatca agacctgtc attctttcct cgggggatcc atccagcaat 180

gacatcatct catgctgcca caaggacccc aagtctgggc tgctggggac cagccacgct 240  
 ccccactgct cattccttca tcctagagac attctgactc tcctccgact gcgctgtgca 300  
 caggcgtgac aagctctttt acatctcagt ctgcacaact tcaggcactt agcagattga 360  
 tatgcatcca acaaattattg attgaatatc tgctaaatac ccagtaatgt ttcatgagtg 420  
 attgggtgaa taaaggaatg ctgggttcctt ctggccatat taactcctgc acaataactaa 480  
 gaaaaataaa ttgacttagc tgtggaataa tgtgaatccc aatgtcatct attgaaatat 540  
 tacctgacta ttaagaggta tttatttttg tatcttttct agcaaagtaa ataaaattct 600  
 taatacagca tatccctta ttcacggggg gtatgttcca agacccccgg tggatgcctg 660  
 aaactatgga taataccaga tcc 683

<210> 60

<211> 914

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Met Gly Pro Phe Lys Ser Ser Val Phe Ile Leu Ile Leu His Leu Leu  
1 5 10 15

Glu Gly Ala Leu Ser Asn Ser Leu Ile Gln Leu Asn Asn Asn Gly Tyr  
20 25 30

Glu Gly Ile Val Val Ala Ile Asp Pro Asn Val Pro Glu Asp Glu Thr  
35 40 45

Leu Ile Gln Gln Ile Lys Asp Met Val Thr Gln Ala Ser Leu Tyr Leu  
50 55 60

Phe Glu Ala Thr Gly Lys Arg Phe Tyr Phe Lys Asn Val Ala Ile Leu  
65 70 75 80

Ile Pro Glu Thr Trp Lys Thr Lys Ala Asp Tyr Val Arg Pro Lys Leu  
85 90 95

Glu Thr Tyr Lys Asn Ala Asp Val Leu Val Ala Glu Ser Thr Pro Pro  
100 105 110

Gly Asn Asp Glu Pro Tyr Thr Glu Gln Met Gly Asn Cys Gly Glu Lys  
115 120 125

Gly Glu Arg Ile His Leu Thr Pro Asp Phe Ile Ala Gly Lys Lys Leu  
130 135 140

Ala Glu Tyr Gly Pro Gln Gly Lys Ala Phe Val His Glu Trp Ala His  
145 150 155 160

Leu Arg Trp Gly Val Phe Asp Glu Tyr Asn Asn Asp Glu Lys Phe Tyr  
165 170 175

Leu Ser Asn Gly Arg Ile Gln Ala Val Arg Cys Ser Ala Gly Ile Thr  
180 185 190

Gly Thr Asn Val Val Lys Lys Cys Gln Gly Gly Ser Cys Tyr Thr Lys  
195 200 205

Arg Cys Thr Phe Asn Lys Val Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Gly Cys Glu  
210 215 220

Phe Val Leu Gln Ser Arg Gln Thr Glu Lys Ala Ser Ile Met Phe Ala  
225 230 235 240

Gln His Val Asp Ser Ile Val Glu Phe Cys Thr Glu Gln Asn His Asn  
245 250 255

Lys Glu Ala Pro Asn Lys Gln Asn Gln Lys Cys Asn Leu Arg Ser Thr  
260 265 270

Trp Glu Val Ile Arg Asp Ser Glu Asp Phe Lys Lys Thr Thr Pro Met  
275 280 285

Thr Thr Gln Pro Pro Asn Pro Thr Phe Ser Leu Leu Gln Ile Gly Gln  
290 295 300

Arg Ile Val Cys Leu Val Leu Asp Lys Ser Gly Ser Met Ala Thr Gly  
305 310 315 320

Asn Arg Leu Asn Arg Leu Asn Gln Ala Gly Gln Leu Phe Leu Leu Gln  
325 330 335

Thr Val Glu Leu Gly Ser Trp Val Gly Met Val Thr Phe Asp Ser Ala  
340 345 350

Ala His Val Gln Ser Glu Leu Ile Gln Ile Asn Ser Gly Ser Asp Arg  
355 360 365

Asp Thr Leu Ala Lys Arg Leu Pro Ala Ala Ala Ser Gly Gly Thr Ser  
370 375 380

Ile Cys Ser Gly Leu Arg Ser Ala Phe Thr Val Ile Arg Lys Lys Tyr  
385 390 395 400

Pro Thr Asp Gly Ser Glu Ile Val Leu Leu Thr Asp Gly Glu Asp Asn  
405 410 415

Thr Ile Ser Gly Cys Phe Asn Glu Val Lys Gln Ser Gly Ala Ile Ile  
 420 425 430

His Thr Val Ala Leu Gly Pro Ser Ala Ala Gln Glu Leu Glu Glu Leu  
 435 440 445

Ser Lys Met Thr Gly Gly Leu Gln Thr Tyr Ala Ser Asp Gln Val Gln  
 450 455 460

Asn Asn Gly Leu Ile Asp Ala Phe Gly Ala Leu Ser Ser Gly Asn Gly  
 465 470 475 480

Ala Val Ser Gln Arg Ser Ile Gln Leu Glu Ser Lys Gly Leu Thr Leu  
 485 490 495

Gln Asn Ser Gln Trp Met Asn Gly Thr Val Ile Val Asp Ser Thr Val  
 500 505 510

Gly Lys Asp Thr Leu Phe Leu Ile Thr Trp Thr Thr Gln Pro Pro Gln  
 515 520 525

Ile Leu Leu Trp Asp Pro Ser Gly Gln Lys Gln Gly Gly Phe Val Val  
 530 535 540

Asp Lys Asn Thr Lys Met Ala Tyr Leu Gln Ile Pro Gly Ile Ala Lys  
 545 550 555 560

Val Gly Thr Trp Lys Tyr Ser Leu Gln Ala Ser Ser Gln Thr Leu Thr  
 565 570 575

Leu Thr Val Thr Ser Arg Ala Ser Asn Ala Thr Leu Pro Pro Ile Thr  
 580 585 590

Val Thr Ser Lys Thr Asn Lys Asp Thr Ser Lys Phe Pro Ser Pro Leu  
 595 600 605

Val Val Tyr Ala Asn Ile Arg Gln Gly Ala Ser Pro Ile Leu Arg Ala  
 610 615 620

Ser Val Thr Ala Leu Ile Glu Ser Val Asn Gly Lys Thr Val Thr Leu  
 625 630 635 640

Glu Leu Leu Asp Asn Gly Ala Gly Ala Asp Ala Thr Lys Asp Asp Gly  
 645 650 655

Val Tyr Ser Arg Tyr Phe Thr Thr Tyr Asp Thr Asn Gly Arg Tyr Ser  
 660 665 670

Val Lys Val Arg Ala Leu Gly Gly Val Asn Ala Ala Arg Arg Arg Val  
 675 680 685

Ile Pro Gln Gln Ser Gly Ala Leu Tyr Ile Pro Gly Trp Ile Glu Asn  
690 695 700

Asp Glu Ile Gln Trp Asn Pro Pro Arg Pro Glu Ile Asn Lys Asp Asp  
705 710 715 720

Val Gln His Lys Gln Val Cys Phe Ser Arg Thr Ser Ser Gly Gly Ser  
725 730 735

Phe Val Ala Ser Asp Val Pro Asn Ala Pro Ile Pro Asp Leu Phe Pro  
740 745 750

Pro Gly Gln Ile Thr Asp Leu Lys Ala Glu Ile His Gly Gly Ser Leu  
755 760 765

Ile Asn Leu Thr Trp Thr Ala Pro Gly Asp Asp Tyr Asp His Gly Thr  
770 775 780

Ala His Lys Tyr Ile Ile Arg Ile Ser Thr Ser Ile Leu Asp Leu Arg  
785 790 795 800

Asp Lys Phe Asn Glu Ser Leu Gln Val Asn Thr Thr Ala Leu Ile Pro  
805 810 815

Lys Glu Ala Asn Ser Glu Glu Val Phe Leu Phe Lys Pro Glu Asn Ile  
820 825 830

Thr Phe Glu Asn Gly Thr Asp Leu Phe Ile Ala Ile Gln Ala Val Asp  
835 840 845

Lys Val Asp Leu Lys Ser Glu Ile Ser Asn Ile Ala Arg Val Ser Leu  
850 855 860

Phe Ile Pro Pro Gln Thr Pro Pro Glu Thr Pro Ser Pro Asp Glu Thr  
865 870 875 880

Ser Ala Pro Cys Pro Asn Ile His Ile Asn Ser Thr Ile Pro Gly Ile  
885 890 895

His Ile Leu Lys Ile Met Trp Lys Trp Ile Gly Glu Leu Gln Leu Ser  
900 905 910

Ile Ala

<210> 61

<211> 501

<212> PRT

<213> Homo sapiens

&lt;400&gt; 61

Met Lys Lys Glu Gly Arg Lys Arg Trp Lys Arg Lys Glu Asp Lys Lys  
 1 5 10 15

Arg Val Val Val Ser Asn Leu Leu Phe Glu Gly Trp Ser His Lys Glu  
 20 25 30

Asn Pro Asn Arg His His Arg Gly Asn Gln Ile Lys Thr Ser Lys Tyr  
 35 40 45

Thr Val Leu Ser Phe Val Pro Lys Asn Ile Phe Glu Gln Leu His Arg  
 50 55 60

Phe Ala Asn Leu Tyr Phe Val Gly Ile Ala Val Leu Asn Phe Ile Pro  
 65 70 75 80

Val Val Asn Ala Phe Gln Pro Glu Val Ser Met Ile Pro Ile Cys Val  
 85 90 95

Ile Leu Ala Val Thr Ala Ile Lys Asp Ala Trp Glu Asp Leu Arg Arg  
 100 105 110

Tyr Lys Ser Asp Lys Val Ile Asn Asn Arg Glu Cys Leu Ile Tyr Ser  
 115 120 125

Arg Lys Glu Gln Thr Tyr Val Gln Lys Cys Trp Lys Asp Val Arg Val  
 130 135 140

Gly Asp Phe Ile Gln Met Lys Cys Asn Glu Ile Val Pro Ala Asp Ile  
 145 150 155 160

Leu Leu Leu Phe Ser Ser Asp Pro Asn Gly Ile Cys His Leu Glu Thr  
 165 170 175

Ala Ser Leu Asp Gly Glu Thr Asn Leu Lys Gln Arg Arg Val Val Lys  
 180 185 190

Gly Phe Ser Gln Gln Glu Val Gln Phe Glu Pro Glu Leu Phe His Asn  
 195 200 205

Thr Ile Val Cys Glu Lys Pro Asn Asn His Leu Asn Lys Phe Lys Gly  
 210 215 220

Tyr Met Glu His Pro Asp Gln Thr Arg Thr Gly Phe Gly Cys Glu Ser  
 225 230 235 240

Leu Leu Leu Arg Gly Cys Thr Ile Arg Asn Thr Glu Met Ala Val Gly  
 245 250 255



Ile Val Ile Tyr Ala Gly His Glu Thr Lys Ala Met Leu Asn Asn Ser  
260 265 270

Gly Pro Arg Tyr Lys Arg Ser Lys Ile Glu Arg Arg Met Asn Ile Asp  
275 280 285

Ile Phe Phe Cys Ile Gly Ile Leu Ile Leu Met Cys Leu Ile Gly Ala  
290 295 300

Val Gly His Ser Ile Trp Asn Gly Thr Phe Glu Glu His Pro Pro Phe  
305 310 315 320

Asp Val Pro Asp Ala Asn Gly Ser Phe Leu Pro Ser Ala Leu Gly Gly  
325 330 335

Phe Tyr Met Phe Leu Thr Met Ile Ile Leu Leu Gln Val Leu Ile Pro  
340 345 350

Ile Ser Leu Tyr Val Ser Ile Glu Leu Val Lys Leu Gly Gln Val Phe  
355 360 365

Phe Leu Ser Asn Asp Leu Asp Leu Tyr Asp Glu Glu Thr Asp Leu Ser  
370 375 380

Ile Gln Cys Arg Ala Leu Asn Ile Ala Glu Asp Leu Gly Gln Ile Gln  
385 390 395 400

Tyr Ile Phe Ser Asp Lys Thr Gly Thr Leu Thr Glu Asn Lys Met Val  
405 410 415

Phe Arg Arg Cys Thr Ile Met Gly Ser Glu Tyr Ser His Gln Glu Asn  
420 425 430

Gly Ile Glu Ala Pro Lys Gly Ser Ile Pro Leu Ser Lys Arg Lys Tyr  
435 440 445

Pro Ala Leu Leu Arg Asn Glu Glu Ile Lys Asp Ile Leu Leu Ala Leu  
450 455 460

Leu Glu Ala Val Trp His Phe His Lys Leu Leu Pro Val Ser Leu Trp  
465 470 475 480

Ser Ser Leu Ser Gln Ile Arg Ala Val Pro Ile Thr Cys Lys Leu Ser  
485 490 495

Phe Val Tyr Lys Gly  
500

<210> 62

<211> 154

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 62

Met Gly Arg Arg Ser Pro Phe Lys Pro Arg Asn Lys Val Phe Gly Phe  
 1 5 10 15

Ser Tyr Pro Trp Cys Arg Ser Tyr Gln Pro Phe Pro Arg Lys Arg Ala  
 20 25 30

Trp Pro Pro Ser Arg Val Trp Leu Gly Ala Cys Cys Ala Ser Leu Ala  
 35 40 45

Ser Pro Pro Lys Gly Thr Ile Pro Ser Gly Glu Tyr Tyr Arg Pro Ala  
 50 55 60

Pro Ser Ser Ser Gly Asp Ser Leu Arg Arg Glu Ser Gly Ala Leu Leu  
 65 70 75 80

Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Ala Ser Pro Cys Ala Asn His Ala Thr Arg  
 85 90 95

Cys Ser Leu Leu Phe Pro Ile Tyr Lys Ile Lys Met Thr Leu Leu Tyr  
 100 105 110

Leu Thr Gly Leu Ala Arg Thr His Cys Cys Cys Leu Ala Asp Arg Cys  
 115 120 125

Ala Glu Ala Val Glu Ser Ala Phe Tyr Leu Val Gly Ser Leu Cys Ile  
 130 135 140

Asn Ala Arg Gly Ala Ala His Leu Thr Asp  
 145 150

&lt;210&gt; 63

&lt;211&gt; 484

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 63

Met Ala Gly Pro Trp Thr Phe Thr Leu Leu Cys Gly Leu Leu Ala Ala  
 1 5 10 15

Thr Leu Ile Gln Ala Thr Leu Ser Pro Thr Ala Val Leu Ile Leu Gly  
 20 25 30

Pro Lys Val Ile Lys Glu Lys Leu Thr Gln Glu Leu Lys Asp His Asn  
 35 40 45  
 Ala Thr Ser Ile Leu Gln Gln Leu Pro Leu Leu Ser Ala Met Arg Glu  
 50 55 60  
 Lys Pro Ala Gly Gly Ile Pro Val Leu Gly Ser Leu Val Asn Thr Val  
 65 70 75 80  
 Leu Lys His Ile Ile Trp Leu Lys Val Ile Thr Ala Asn Ile Leu Gln  
 85 90 95  
 Leu Gln Val Lys Pro Ser Ala Asn Asp Gln Glu Leu Leu Val Lys Ile  
 100 105 110  
 Pro Leu Asp Met Val Ala Gly Phe Asn Thr Pro Leu Val Lys Thr Ile  
 115 120 125  
 Val Glu Phe His Met Thr Thr Glu Ala Gln Ala Thr Ile Arg Met Asp  
 130 135 140  
 Thr Ser Ala Ser Gly Pro Thr Arg Leu Val Leu Ser Asp Cys Ala Thr  
 145 150 155 160  
 Ser His Gly Ser Leu Arg Ile Gln Leu Leu His Lys Leu Ser Phe Leu  
 165 170 175  
 Val Asn Ala Leu Ala Lys Gln Val Met Asn Leu Leu Val Pro Ser Leu  
 180 185 190  
 Pro Asn Leu Val Lys Asn Gln Leu Cys Pro Val Ile Glu Ala Ser Phe  
 195 200 205  
 Asn Gly Met Tyr Ala Asp Leu Leu Gln Leu Val Lys Val Pro Ile Ser  
 210 215 220  
 Leu Ser Ile Asp Arg Leu Glu Phe Asp Leu Leu Tyr Pro Ala Ile Lys  
 225 230 235 240  
 Gly Asp Thr Ile Gln Leu Tyr Leu Gly Ala Lys Leu Leu Asp Ser Gln  
 245 250 255  
 Gly Lys Val Thr Lys Trp Phe Asn Asn Ser Ala Ala Ser Leu Thr Met  
 260 265 270  
 Pro Thr Leu Asp Asn Ile Pro Phe Ser Leu Ile Val Ser Gln Asp Val  
 275 280 285  
 Val Lys Ala Ala Val Ala Ala Val Leu Ser Pro Glu Glu Phe Met Val  
 290 295 300

Leu Leu Asp Ser Val Leu Pro Glu Ser Ala His Arg Leu Lys Ser Ser  
 305 310 315 320

Ile Gly Leu Ile Asn Glu Lys Ala Ala Asp Lys Leu Gly Ser Thr Gln  
 325 330 335

Ile Val Lys Ile Leu Thr Gln Asp Thr Pro Glu Phe Phe Ile Asp Gln  
 340 345 350

Gly His Ala Lys Val Ala Gln Leu Ile Val Leu Glu Val Phe Pro Ser  
 355 360 365

Ser Glu Ala Leu Arg Pro Leu Phe Thr Leu Gly Ile Glu Ala Ser Ser  
 370 375 380

Glu Ala Gln Phe Tyr Thr Lys Gly Asp Gln Leu Ile Leu Asn Leu Asn  
 385 390 395 400

Asn Ile Ser Ser Asp Arg Ile Gln Leu Met Asn Ser Gly Ile Gly Trp  
 405 410 415

Phe Gln Pro Asp Val Leu Lys Asn Ile Ile Thr Glu Ile Ile His Ser  
 420 425 430

Ile Leu Leu Pro Asn Gln Asn Gly Lys Leu Arg Ser Gly Val Pro Val  
 435 440 445

Ser Leu Val Lys Ala Leu Gly Phe Glu Ala Ala Glu Ser Ser Leu Thr  
 450 455 460

Lys Asp Ala Leu Val Leu Thr Pro Ala Ser Leu Trp Lys Pro Ser Ser  
 465 470 475 480

Pro Val Ser Gln

<210> 64

<211> 256

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

Met Phe Gln Thr Gly Gly Leu Ile Val Phe Tyr Gly Leu Leu Ala Gln  
 1 5 10 15

Thr Met Ala Gln Phe Gly Gly Leu Pro Val Pro Leu Asp Gln Thr Leu  
 20 25 30

Pro Leu Asn Val Asn Pro Ala Leu Pro Leu Ser Pro Thr Gly Leu Ala  
 35 40 45

Gly Ser Leu Thr Asn Ala Leu Ser Asn Gly Leu Leu Ser Gly Gly Leu  
 50 55 60

Leu Gly Ile Leu Glu Asn Leu Pro Leu Leu Asp Ile Leu Lys Pro Gly  
 65 70 75 80

Gly Gly Thr Ser Gly Gly Leu Leu Gly Gly Leu Leu Gly Lys Val Thr  
 85 90 95

Ser Val Ile Pro Gly Leu Asn Asn Ile Ile Asp Ile Lys Val Thr Asp  
 100 105 110

Pro Gln Leu Leu Glu Leu Gly Leu Val Gln Ser Pro Asp Gly His Arg  
 115 120 125

Leu Tyr Val Thr Ile Pro Leu Gly Ile Lys Leu Gln Val Asn Thr Pro  
 130 135 140

Leu Val Gly Ala Ser Leu Leu Arg Leu Ala Val Lys Leu Asp Ile Thr  
 145 150 155 160

Ala Glu Ile Leu Ala Val Arg Asp Lys Gln Glu Arg Ile His Leu Val  
 165 170 175

Leu Gly Asp Cys Thr His Ser Pro Gly Ser Leu Gln Ile Ser Leu Leu  
 180 185 190

Asp Gly Leu Gly Pro Leu Pro Ile Gln Gly Leu Leu Asp Ser Leu Thr  
 195 200 205

Gly Ile Leu Asn Lys Val Leu Pro Glu Leu Val Gln Gly Asn Val Cys  
 210 215 220

Pro Leu Val Asn Glu Val Leu Arg Gly Leu Asp Ile Thr Leu Val His  
 225 230 235 240

Asp Ile Val Asn Met Leu Ile His Gly Leu Gln Phe Val Ile Lys Val  
 245 250 255

<210> 65

<211> 791

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

Met Ser Gln Pro Arg Pro Arg Tyr Val Val Asp Arg Ala Ala Tyr Ser  
 1 5 10 15  
 Leu Thr Leu Phe Asp Asp Glu Phe Glu Lys Lys Asp Arg Thr Tyr Pro  
 20 25 30  
 Val Gly Glu Lys Leu Arg Asn Ala Phe Arg Cys Ser Ser Ala Lys Ile  
 35 40 45  
 Lys Ala Val Val Phe Gly Leu Leu Pro Val Leu Ser Trp Leu Pro Lys  
 50 55 60  
 Tyr Lys Ile Lys Asp Tyr Ile Ile Pro Asp Leu Leu Gly Gly Leu Ser  
 65 70 75 80  
 Gly Gly Ser Ile Gln Val Pro Gln Gly Met Ala Phe Ala Leu Leu Ala  
 85 90 95  
 Asn Leu Pro Ala Val Asn Gly Leu Tyr Ser Ser Phe Phe Pro Leu Leu  
 100 105 110  
 Thr Tyr Phe Phe Leu Gly Gly Val His Gln Met Val Pro Gly Thr Phe  
 115 120 125  
 Ala Val Ile Ser Ile Leu Val Gly Asn Ile Cys Leu Gln Leu Ala Pro  
 130 135 140  
 Glu Ser Lys Phe Gln Val Phe Asn Asn Ala Thr Asn Glu Ser Tyr Val  
 145 150 155 160  
 Asp Thr Ala Ala Met Glu Ala Glu Arg Leu His Val Ser Ala Thr Leu  
 165 170 175  
 Ala Cys Leu Thr Ala Ile Ile Gln Met Gly Leu Gly Phe Met Gln Phe  
 180 185 190  
 Gly Phe Val Ala Ile Tyr Leu Ser Glu Ser Phe Ile Arg Gly Phe Met  
 195 200 205  
 Thr Ala Ala Gly Leu Gln Ile Leu Ile Ser Val Leu Lys Tyr Ile Phe  
 210 215 220  
 Gly Leu Thr Ile Pro Ser Tyr Thr Gly Pro Gly Ser Ile Val Phe Thr  
 225 230 235 240  
 Phe Ile Asp Ile Cys Lys Asn Leu Pro His Thr Asn Ile Ala Ser Leu  
 245 250 255  
 Ile Phe Ala Leu Ile Ser Gly Ala Phe Leu Val Leu Val Lys Glu Leu  
 260 265 270

Asn Ala Arg Tyr Met His Lys Ile Arg Phe Pro Ile Pro Thr Glu Met  
275 280 285

Ile Val Val Val Val Ala Thr Ala Ile Ser Gly Gly Cys Lys Met Pro  
290 295 300

Lys Lys Tyr His Met Gln Ile Val Gly Glu Ile Gln Arg Gly Phe Pro  
305 310 315 320

Thr Pro Val Ser Pro Val Val Ser Gln Trp Lys Asp Met Ile Gly Thr  
325 330 335

Ala Phe Ser Leu Ala Ile Val Ser Tyr Val Ile Asn Leu Ala Met Gly  
340 345 350

Arg Thr Leu Ala Asn Lys His Gly Tyr Asp Val Asp Ser Asn Gln Glu  
355 360 365

Met Ile Ala Leu Gly Cys Ser Asn Phe Phe Gly Ser Phe Phe Lys Ile  
370 375 380

His Val Ile Cys Cys Ala Leu Ser Val Thr Leu Ala Val Asp Gly Ala  
385 390 395 400

Gly Gly Lys Ser Gln Val Ala Ser Leu Cys Val Ser Leu Val Val Met  
405 410 415

Ile Thr Met Leu Val Leu Gly Ile Tyr Leu Tyr Pro Leu Pro Lys Ser  
420 425 430

Val Leu Gly Ala Leu Ile Ala Val Asn Leu Lys Asn Ser Leu Lys Gln  
435 440 445

Leu Thr Asp Pro Tyr Tyr Leu Trp Arg Lys Ser Lys Leu Asp Cys Cys  
450 455 460

Ile Trp Val Val Ser Phe Leu Ser Ser Phe Phe Leu Ser Leu Pro Tyr  
465 470 475 480

Gly Val Ala Val Gly Val Ala Phe Ser Val Leu Val Val Val Phe Gln  
485 490 495

Thr Gln Phe Arg Asn Gly Tyr Ala Leu Ala Gln Val Met Asp Thr Asp  
500 505 510

Ile Tyr Val Asn Pro Lys Thr Tyr Asn Arg Ala Gln Asp Ile Gln Gly  
515 520 525

Ile Lys Ile Ile Thr Tyr Cys Ser Pro Leu Tyr Phe Ala Asn Ser Glu  
530 535 540

Ile Phe Arg Gln Lys Val Ile Ala Lys Thr Gly Met Asp Pro Gln Lys  
545 550 555 560

Val Leu Leu Ala Lys Gln Lys Tyr Leu Lys Lys Gln Glu Lys Arg Arg  
565 570 575

Met Arg Pro Thr Gln Gln Arg Arg Ser Leu Phe Met Lys Thr Lys Thr  
580 585 590

Val Ser Leu Gln Glu Leu Gln Gln Asp Phe Glu Asn Ala Pro Pro Thr  
595 600 605

Asp Pro Asn Asn Asn Gln Thr Pro Ala Asn Gly Thr Ser Val Ser Tyr  
610 615 620

Ile Thr Phe Ser Pro Asp Ser Ser Ser Pro Ala Gln Ser Glu Pro Pro  
625 630 635 640

Ala Ser Ala Glu Ala Pro Gly Glu Pro Ser Asp Met Leu Ala Ser Val  
645 650 655

Pro Pro Phe Val Thr Phe His Thr Leu Ile Leu Asp Met Ser Gly Val  
660 665 670

Ser Phe Val Asp Leu Met Gly Ile Lys Ala Leu Ala Lys Leu Ser Ser  
675 680 685

Thr Tyr Gly Lys Ile Gly Val Lys Val Phe Leu Val Asn Ile His Ala  
690 695 700

Gln Val Tyr Asn Asp Ile Ser His Gly Gly Val Phe Glu Asp Gly Ser  
705 710 715 720

Leu Glu Cys Lys His Val Phe Pro Ser Ile His Asp Ala Val Leu Phe  
725 730 735

Ala Gln Ala Asn Ala Arg Asp Val Thr Pro Gly His Asn Phe Gln Gly  
740 745 750

Ala Pro Gly Asp Ala Glu Leu Ser Leu Tyr Asp Ser Glu Glu Asp Ile  
755 760 765

Arg Ser Tyr Trp Asp Leu Glu Gln Glu Met Phe Gly Ser Met Phe His  
770 775 780

Ala Glu Thr Leu Thr Ala Leu  
785 790

<210> 66

<211> 243



&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 66

Met Glu Gln Gly Ser Gly Arg Leu Glu Asp Phe Pro Val Asn Val Phe  
 1 5 10 15

Ser Val Thr Pro Tyr Thr Pro Ser Thr Ala Asp Ile Gln Val Ser Asp  
 20 25 30

Asp Asp Lys Ala Gly Ala Thr Leu Leu Phe Ser Gly Ile Phe Leu Gly  
 35 40 45

Leu Val Gly Ile Thr Phe Thr Val Met Gly Trp Ile Lys Tyr Gln Gly  
 50 55 60

Val Ser His Phe Glu Trp Thr Gln Leu Leu Gly Pro Val Leu Leu Ser  
 65 70 75 80

Val Gly Val Thr Phe Ile Leu Ile Ala Val Cys Lys Phe Lys Met Leu  
 85 90 95

Ser Cys Gln Leu Cys Lys Glu Ser Glu Glu Arg Val Pro Asp Ser Glu  
 100 105 110

Gln Thr Pro Gly Gly Pro Ser Phe Val Phe Thr Gly Ile Asn Gln Pro  
 115 120 125

Ile Thr Phe His Gly Ala Thr Val Val Gln Tyr Ile Pro Pro Pro Tyr  
 130 135 140

Gly Ser Pro Glu Pro Met Gly Ile Asn Thr Ser Tyr Leu Gln Ser Val  
 145 150 155 160

Val Ser Pro Cys Gly Leu Ile Thr Ser Gly Gly Ala Ala Ala Ala Met  
 165 170 175

Ser Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Thr Ile Tyr Pro Gln Asp Asn Ser Ala  
 180 185 190

Phe Val Val Asp Glu Gly Cys Leu Ser Phe Thr Asp Gly Gly Asn His  
 195 200 205

Arg Pro Asn Pro Asp Val Asp Gln Leu Glu Glu Thr Gln Leu Glu Glu  
 210 215 220

Glu Ala Cys Ala Cys Phe Ser Pro Pro Pro Tyr Glu Glu Ile Tyr Ser  
 225 230 235 240

Leu Pro Arg

<210> 67

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 67

acacgaatgg tagatacagt g

21

<210> 68

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 68

atattgtga gctgttccat g

21

<210> 69

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 69

actgttacct tgcattgact g

21

<210> 70

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 70

caatgagaac acatggacat g

21

<210> 71

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 71

ccatgaaagc tccatgtcta c

21

<210> 72

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 72

agagatggca catattctgt c

21

<210> 73

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 73

atcggctgaa gtcaagcatc g

21

<210> 74

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 74

tggtcagtga ggactcagct g

21

<210> 75

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 75

tttctctgct tgatgcactt g

21

<210> 76

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 76

gtgagcactg ggaagcagct c

21

<210> 77

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 77

ggcaaagtgc agagacgtga c

21

<210> 78

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 78

agggtgtcctt cagctgccaa g

21

<210> 79

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 79

gttaagtgtct ctctggattt g

21

<210> 80

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 80

atccttgattg ctgtgtgcaa g

21

<210> 81

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 81

ctcttctagc tgggtcaacat c

21

&lt;210&gt; 82

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

&lt;400&gt; 82

ccagcaacaa cttacgtggt c

21

&lt;210&gt; 83

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

&lt;400&gt; 83

cctttattca cccaatcact c

21

&lt;210&gt; 84

&lt;211&gt; 2165

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 84

agaacagcgc agtttgccct ccgctcacgc agagcctctc cgtggcctcc gcaccttgag	60
cattaggcca gttctcctct tctctctaata ccatccgtca cctctcctgt catccgtttc	120
catgccgtga ggtccattca cagaacacat ccatggctct catgctcagt ttggttctga	180
gtctcctcaa gctgggatca gggcagtggc aggtgtttgg gccagacaag cctgtccagg	240
ccttggtggg ggaggacgca gcattctcct gtttcctgtc tcctaagacc aatgcagagg	300
ccatggaagt gcggttcttc aggggccagt tctctagcgt ggtccacctc tacagggacg	360
ggaaggacca gccatttatg cagatgccac agtatcaagg caggacaaaa ctggtgaagg	420
attctattgc ggaggggcgc atctctctga ggctggaaaa cattactgtg ttggatgctg	480
gcctctatgg gtgcaggatt agttcccagt cttactacca gaaggccatc tgggagctac	540
aggtgtcagc actgggctca gttcctctca tttccatcac gggatatgtt gatagagaca	600

```

tccagctact ctgtcagtc tgggctggt tccccggcc cacagcgaag tggaaaggtc 660
cacaaggaca ggatttgtcc acagactcca ggacaaacag agacatgcat ggcctgtttg 720
atgtggagat ctctctgacc gtccaagaga acgccgggag catatcctgt tccatgcggc 780
atgctcatct gagccgagag gtggaatcca gggtagagat aggagatacc tttttcgagc 840
ctatatcgtg gcacctggct accaaagtac tgggaatact ctgctgtggc ctattttttg 900
gcattgttgg actgaagatt ttcttctcca aattccagtg taagcgagag agagaagcat 960
gggccggtgc cttattcatg gttccagcag ggacaggatc agagatgctc ccacatccag 1020
ctgcttctct tcttctagtc ctagcctcca gggggccagg cccaaaaaag gaaaatccag 1080
gcggaactgg actggagaag aaagcacgga caggcagaat tgagagacgc ccggaacac 1140
gcagtggagg tgactctgga tccagagacg gtcacccga agctctgcgt ttctgatctg 1200
aaaactgtaa cccatagaaa agctccccag gaggtgcctc actctgagaa gagatttaca 1260
aggaagagtg tgggtggcttc tcagagtttc caagcaggga aacattactg ggaggtggac 1320
ggaggacaca ataaaaggtg gcgcgtggga gtgtgccggg atgatgtgga caggaggaag 1380
gagtacgtga ctttgtctcc cgatcatggg tactgggtcc tcagactgaa tggagaacat 1440
ttgtatttca cattaaatcc ccgttttatc agcgtcttcc ccaggacccc acctacaaaa 1500
ataggggtct tcctggacta tgagtgtggg accatctcct tcttcaacat aaatgaccag 1560
tcccttattt ataccctgac atgtcgggtt gaaggcttat tgaggcccta cattgagtat 1620
ccgtcctata atgagcaaaa tggaactccc atagtcatct gccagtcac ccaggaatca 1680
gagaaagagg cctcttggca aagggcctct gcaatcccag agacaagcaa cagtgagtcc 1740
tcctcacagg caaccacgcc ctctctccc aggggtgaaa tgtaggatga atcacatccc 1800
acattcttct ttagggatat taaggctctc ctcccagatc caaagtcccg cagcagccgg 1860
ccaaggtggc ttccagatga agggggactg gcctgtccac atgggagtca ggtgtcatgg 1920
ctgccctgag ctgggagggg agaaggctga cattacattt agtttgctct cactccatct 1980
ggctaagtga tcttgaaata ccacctctca ggtgaagaac cgtcaggaat tcccatctca 2040
caggctgtgg ttagatttaa gtagacaagg aatgtgaata atgcttagat cttattgatg 2100
acagagtgtg tcctaattgg ttgttcatta tattacactt tcagtaaaaa aaaaaaaaaa 2160
aaaaa 2165

```

&lt;210&gt; 85

&lt;211&gt; 347

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 85

Met Ala Leu Met Leu Ser Leu Val Leu Ser Leu Leu Lys Leu Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Gly Gln Trp Gln Val Phe Gly Pro Asp Lys Pro Val Gln Ala Leu Val  
 20 25 30  
 Gly Glu Asp Ala Ala Phe Ser Cys Phe Leu Ser Pro Lys Thr Asn Ala  
 35 40 45  
 Glu Ala Met Glu Val Arg Phe Phe Arg Gly Gln Phe Ser Ser Val Val  
 50 55 60  
 His Leu Tyr Arg Asp Gly Lys Asp Gln Pro Phe Met Gln Met Pro Gln  
 65 70 75 80  
 Tyr Gln Gly Arg Thr Lys Leu Val Lys Asp Ser Ile Ala Glu Gly Arg  
 85 90 95  
 Ile Ser Leu Arg Leu Glu Asn Ile Thr Val Leu Asp Ala Gly Leu Tyr  
 100 105 110  
 Gly Cys Arg Ile Ser Ser Gln Ser Tyr Tyr Gln Lys Ala Ile Trp Glu  
 115 120 125  
 Leu Gln Val Ser Ala Leu Gly Ser Val Pro Leu Ile Ser Ile Thr Gly  
 130 135 140  
 Tyr Val Asp Arg Asp Ile Gln Leu Leu Cys Gln Ser Ser Gly Trp Phe  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Pro Thr Ala Lys Trp Lys Gly Pro Gln Gly Gln Asp Leu Ser  
 165 170 175  
 Thr Asp Ser Arg Thr Asn Arg Asp Met His Gly Leu Phe Asp Val Glu  
 180 185 190  
 Ile Ser Leu Thr Val Gln Glu Asn Ala Gly Ser Ile Ser Cys Ser Met  
 195 200 205  
 Arg His Ala His Leu Ser Arg Glu Val Glu Ser Arg Val Gln Ile Gly  
 210 215 220  
 Asp Thr Phe Phe Glu Pro Ile Ser Trp His Leu Ala Thr Lys Val Leu  
 225 230 235 240  
 Gly Ile Leu Cys Cys Gly Leu Phe Phe Gly Ile Val Gly Leu Lys Ile  
 245 250 255  
 Phe Phe Ser Lys Phe Gln Cys Lys Arg Glu Arg Glu Ala Trp Ala Gly  
 260 265 270



Ala Leu Phe Met Val Pro Ala Gly Thr Gly Ser Glu Met Leu Pro His  
 275 280 285

Pro Ala Ala Ser Leu Leu Leu Val Leu Ala Ser Arg Gly Pro Gly Pro  
 290 295 300

Lys Lys Glu Asn Pro Gly Gly Thr Gly Leu Glu Lys Lys Ala Arg Thr  
 305 310 315 320

Gly Arg Ile Glu Arg Arg Pro Glu Thr Arg Ser Gly Gly Asp Ser Gly  
 325 330 335

Ser Arg Asp Gly Ser Pro Glu Ala Leu Arg Phe  
 340 345

<210> 86

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 86

attcatgggt ccagcagggga c

21

<210> 87

<211> 21

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 87

gggagacaaa gtcacgtact c

21

<210> 88

<211> 22

<212> DNA

<213> künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 88  
tcctgggtgtt cgtgggtctgc tt

22

<210> 89  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 89  
gagagtcctg gcttttgtgg gc

22

<210> 90  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 90

Gly Ser Ser Asp Leu Thr Trp Pro Pro Ala Ile Lys Leu Gly Cys  
1 5 10 15

<210> 91  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 91

Asp Arg Tyr Val Ala Val Arg His Pro Leu Arg Ala Arg Gly Leu Arg  
1 5 10 15

<210> 92  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 92

Val Ala Pro Arg Ala Lys Ala His Lys Ser Gln Asp Ser Leu Cys  
1 5 10 15

<210> 93  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 93

Cys Phe Arg Ser Thr Arg His Asn Phe Asn Ser Met Arg  
1 5 10

<210> 94  
<211> 22  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 94

Met Asn Gly Thr Tyr Asn Thr Cys Gly Ser Ser Asp Leu Thr Trp Pro  
 1 5 10 15

Pro Ala Ile Lys Leu Gly  
 20

<210> 95  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 95

Arg Asp Thr Ser Asp Thr Pro Leu Cys Gln Leu Ser Gln Gly  
 1 5 10

<210> 96  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 96

Gly Ile Gln Glu Gly Gly Phe Cys Phe Arg Ser Thr Arg His Asn Phe  
 1 5 10 15

Asn Ser Met Arg Phe Pro  
 20

<210> 97  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 97

Ala Lys Glu Phe Gln Glu Ala Ser Ala Leu Ala Val Ala Pro Arg Ala  
 1 5 10 15

Lys Ala His Lys Ser Gln Asp Ser Leu Cys Val Thr Leu Ala  
 20 25 30

<210> 98  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 98  
 tcctgctcgt cgctctcctg at

22

<210> 99  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 99  
tcgctttttg tcgtatttgc

20

<210> 100  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 100

His Asn Gly Ser Tyr Glu Ile Ser Val Leu Met Met Gly Asn Ser  
1 5 10 15

<210> 101  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 101

Asn Leu Pro Thr Pro Pro Thr Val Glu Asn Gln Gln Arg Leu Ala  
1 5 10 15

<210> 102  
<211> 619  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 102

Arg Lys Tyr Arg Lys Asp Tyr Glu Leu Arg Gln Lys Lys Trp Ser His  
1 5 10 15

Ile Pro Pro Glu Asn Ile Phe Pro Leu Glu Thr Asn Glu Thr Asn His  
20 25 30

Val Ser Leu Lys Ile Asp Asp Asp Lys Arg Arg Asp Thr Ile Gln Arg  
35 40 45

Leu Arg Gln Cys Lys Tyr Asp Lys Lys Arg Val Ile Leu Lys Asp Leu  
50 55 60

Lys His Asn Asp Gly Asn Phe Thr Glu Lys Gln Lys Ile Glu Leu Asn  
65 70 75 80

Lys Leu Leu Gln Ile Asp Tyr Tyr Asn Leu Thr Lys Phe Tyr Gly Thr  
85 90 95

Val Lys Leu Asp Thr Met Ile Phe Gly Val Ile Glu Tyr Cys Glu Arg  
100 105 110

Gly Ser Leu Arg Glu Val Leu Asn Asp Thr Ile Ser Tyr Pro Asp Gly  
115 120 125

Thr Phe Met Asp Trp Glu Phe Lys Ile Ser Val Leu Tyr Asp Ile Ala  
 130 135 140

Lys Gly Met Ser Tyr Leu His Ser Ser Lys Thr Glu Val His Gly Arg  
 145 150 155 160

Leu Lys Ser Thr Asn Cys Val Val Asp Ser Arg Met Val Val Lys Ile  
 165 170 175

Thr Asp Phe Gly Cys Asn Ser Ile Leu Pro Pro Lys Lys Asp Leu Trp  
 180 185 190

Thr Ala Pro Glu His Leu Arg Gln Ala Asn Ile Ser Gln Lys Gly Asp  
 195 200 205

Val Tyr Ser Tyr Gly Ile Ile Ala Gln Glu Ile Ile Leu Arg Lys Glu  
 210 215 220

Thr Phe Tyr Thr Leu Ser Cys Arg Asp Arg Asn Glu Lys Ile Phe Arg  
 225 230 235 240

Val Glu Asn Ser Asn Gly Met Lys Pro Phe Arg Pro Asp Leu Phe Leu  
 245 250 255

Glu Thr Ala Glu Glu Lys Glu Leu Glu Val Tyr Leu Leu Val Lys Asn  
 260 265 270

Cys Trp Glu Glu Asp Pro Glu Lys Arg Pro Asp Phe Lys Lys Ile Glu  
 275 280 285

Thr Thr Leu Ala Lys Ile Phe Gly Leu Phe His Asp Gln Lys Asn Glu  
 290 295 300

Ser Tyr Met Asp Thr Leu Ile Arg Arg Leu Gln Leu Tyr Ser Arg Asn  
 305 310 315 320

Leu Glu His Leu Val Glu Glu Arg Thr Gln Leu Tyr Lys Ala Glu Arg  
 325 330 335

Asp Arg Ala Asp Arg Leu Asn Phe Met Leu Leu Pro Arg Leu Val Val  
 340 345 350

Lys Ser Leu Lys Glu Lys Gly Phe Val Glu Pro Glu Leu Tyr Glu Glu  
 355 360 365

Val Thr Ile Tyr Phe Ser Asp Ile Val Gly Phe Thr Thr Ile Cys Lys  
 370 375 380

Tyr Ser Thr Pro Met Glu Val Val Asp Met Leu Asn Asp Ile Tyr Lys  
 385 390 395 400

Ser Phe Asp His Ile Val Asp His His Asp Val Tyr Lys Val Glu Thr  
 405 410 415

Ile Gly Asp Ala Tyr Met Val Ala Ser Gly Leu Pro Lys Arg Asn Gly  
 420 425 430

Asn Arg His Ala Ile Asp Ile Ala Lys Met Ala Leu Glu Ile Leu Ser  
 435 440 445

Phe Met Gly Thr Phe Glu Leu Glu His Leu Pro Gly Leu Pro Ile Trp  
 450 455 460

Ile Arg Ile Gly Val His Ser Gly Pro Cys Ala Ala Gly Val Val Gly  
 465 470 475 480

Ile Lys Met Pro Arg Tyr Cys Leu Phe Gly Asp Thr Val Asn Thr Ala  
 485 490 495

Ser Arg Met Glu Ser Thr Gly Leu Pro Leu Arg Ile His Val Ser Gly  
 500 505 510

Ser Thr Ile Ala Ile Leu Lys Arg Thr Glu Cys Gln Phe Leu Tyr Glu  
 515 520 525

Val Arg Gly Glu Thr Tyr Leu Lys Gly Arg Gly Asn Glu Thr Thr Tyr  
 530 535 540

Trp Leu Thr Gly Met Lys Asp Gln Lys Phe Asn Leu Pro Thr Pro Pro  
 545 550 555 560

Val Glu Asn Gln Gln Arg Leu Gln Ala Glu Phe Ser Asp Met Ile  
 565 570 575

Ala Asn Ser Leu Gln Lys Arg Gln Ala Ala Gly Ile Arg Ser Gln Lys  
 580 585 590

Pro Arg Arg Val Ala Ser Tyr Lys Lys Gly Thr Leu Glu Tyr Leu Gln  
 595 600 605

Leu Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ser Thr Tyr Phe  
 610 615

<210> 103  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 103  
 gctggaact atcttctgc

<210> 104  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 104  
 gaagaatggt gtccagaggt

20

<210> 105  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 105

Leu Ile Asn Lys Val Pro Leu Pro Val Asp Lys Leu Ala Pro Leu  
 1 5 10 15

<210> 106  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 106

Ser Glu Ala Val Lys Lys Leu Leu Glu Ala Leu Ser His Leu Val  
 1 5 10 15

<210> 107  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 107  
 tgttttcaac taccaggggc

20

<210> 108  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 108  
 tgttggcttt ggcagagtcc

20

<210> 109  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 109  
gaggcagagt tcaggcttca ccga

24

<210> 110  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 110  
tgttggcttt ggcagagtcc

20

<210> 111  
<211> 56  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 111

Thr Gly Met Asp Met Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asp Asn Pro Val  
1 5 10 15

Thr Ser Val Phe Gln Tyr Glu Gly Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Gln  
20 25 30

Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg Pro Tyr Phe Thr Ile Leu Gly Leu  
35 40 45

Pro Ala Met Leu Gln Ala Val Arg  
50 55

<210> 112  
<211> 53  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 112

Asp Gln Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val  
1 5 10 15

Phe Asn Tyr Gln Gly Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly  
20 25 30

Phe Thr Glu Cys Arg Gly Tyr Phe Thr Leu Leu Gly Leu Pro Ala Met  
35 40 45

Leu Gln Ala Val Arg  
50

<210> 113  
<211> 14



<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 113

Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe  
1 5 10

<210> 114  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 114

Asp Met Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asp Asn Pro  
1 5 10

<210> 115  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 115

Cys Arg Pro Tyr Phe Thr Ile Leu Gly Leu Pro Ala  
1 5 10

<210> 116  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 116

Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly  
5 10

<210> 117  
<211> 816  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 117  
gccaggatca tgtccaccac cacatgccaa gtgggtggcgt tcctcctgtc catcctgggg 60  
ctggccggct gcatcgcggc caccgggatg gacatgtgga gcacccagga cctgtacgac 120  
aaccctgtca cctccgtggt ccagtacgaa gggctctgga ggagctgcgt gaggcagagt 180  
tcaggcttca ccgaatgcag gccctatttc accatcctgg gacttccagc catgctgcag 240  
gcagtgcgag ccctgatgat cgtaggcata gtcctgggtg ccattggcct cctggtatcc 300  
atctttgccc tgaaatgcat ccgcatgggc agcatggagg actctgccaa agccaacatg 360  
acactgacct ccgggatcat gttcattgtc tcaggtcttt gtgcaattgc tggagtgtct 420  
gtgtttgcc aatgctggt gactaacttc tggatgtcca cagctaaca gtacaccggc 480  
atgggtggga tgggtgcagac tggtcagacc aggtacacat ttgggtgcggc tctgttcgtg 540  
ggctgggtcg ctggaggcct cacactaatt ggggggtgtga tgatgtgcat cgcctgcccgg 600

ggcctggcac cagaagaaac caactacaaa gccgtttctt atcatgcctc aggccacagt 660  
 gttgcctaca agcctggagg cttcaaggcc agcactggct ttgggtccaa caccaaaaac 720  
 aagaagatat acgatggagg tgcccgacac gaggacgagg tacaatctta tccttccaag 780  
 cagcactatg tgtaatgctc taagacctct cagcac 816

<210> 118  
 <211> 261  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 118

Met Ser Thr Thr Thr Cys Gln Val Val Ala Phe Leu Leu Ser Ile Leu  
 1 5 10 15

Gly Leu Ala Gly Cys Ile Ala Ala Thr Gly Met Asp Met Trp Ser Thr  
 20 25 30

Gln Asp Leu Tyr Asp Asn Pro Val Thr Ser Val Phe Gln Tyr Glu Gly  
 35 40 45

Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Gln Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg  
 50 55 60

Pro Tyr Phe Thr Ile Leu Gly Leu Pro Ala Met Leu Gln Ala Val Arg  
 65 70 75 80

Ala Leu Met Ile Val Gly Ile Val Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Val  
 85 90 95

Ser Ile Phe Ala Leu Lys Cys Ile Arg Ile Gly Ser Met Glu Asp Ser  
 100 105 110

Ala Lys Ala Asn Met Thr Leu Thr Ser Gly Ile Met Phe Ile Val Ser  
 115 120 125

Gly Leu Cys Ala Ile Ala Gly Val Ser Val Phe Ala Asn Met Leu Val  
 130 135 140

Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly Met Gly Gly  
 145 150 155 160

Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ala Leu Phe  
 165 170 175

Val Gly Trp Val Ala Gly Gly Leu Thr Leu Ile Gly Gly Val Met Met  
 180 185 190

Cys Ile Ala Cys Arg Gly Leu Ala Pro Glu Glu Thr Asn Tyr Lys Ala  
 195 200 205

Val Ser Tyr His Ala Ser Gly His Ser Val Ala Tyr Lys Pro Gly Gly  
 210 215 220

Phe Lys Ala Ser Thr Gly Phe Gly Ser Asn Thr Lys Asn Lys Lys Ile  
 225 230 235 240

Tyr Asp Gly Gly Ala Arg Thr Glu Asp Glu Val Gln Ser Tyr Pro Ser  
 245 250 255

Lys His Asp Tyr Val  
 260

<210> 119  
 <211> 227  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 119  
 gccaggatca tgtccaccac cacatgccaa gtggtggcgt tcctcctgtc catcctgggg 60  
 ctggccggct gcatcgcggc caccgggatg gacatgtgga gcaccagga cctgtacgac 120  
 aaccccgatca cctccgtggt ccagtacgaa gggctctgga ggagctgcgt gaggcagagt 180  
 tcaggcttca ccgaatgcag gccctatttc accatcctgg gacttcc 227

<210> 120  
 <211> 69  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 120

Met Ser Thr Thr Thr Cys Gln Val Val Ala Phe Leu Leu Ser Ile Leu  
 5 10 15

Gly Leu Ala Gly Cys Ile Ala Ala Thr Gly Met Asp Met Trp Ser Thr  
 20 25 30

Gln Asp Leu Tyr Asp Asn Pro Val Thr Ser Val Phe Gln Tyr Glu Gly  
 35 40 45

Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Gln Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg  
 50 55 60

Pro Tyr Phe Thr Ile  
 65

<210> 121  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 121

aatgagagga. aagagaaaac

20

<210> 122  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 122  
atggtagaag agtaggcaat

20

<210> 123  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 123

Glu Lys Trp Asn Leu His Lys Arg Ile Ala Leu Lys Met Val Cys  
1 5 10 15

<210> 124  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 124

Cys Leu Gly Phe Asn Phe Lys Glu Met Phe Lys  
1 5 10

<210> 125  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 125  
taatgatgaa ccctacactg agc

23

<210> 126  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 126  
atggacaaat gccctacctt

20

<210> 127  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

&lt;400&gt; 127

agtgtggaa ggatgtgcgt gt

22

&lt;210&gt; 128

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

&lt;400&gt; 128

tgaggtggt tgggtgggtt

20

&lt;210&gt; 129

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

&lt;400&gt; 129

agatgtgctg aggctgtaga

20

&lt;210&gt; 130

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

&lt;400&gt; 130

atgaaggttg attatttgag

20

&lt;210&gt; 131

&lt;211&gt; 23

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

&lt;400&gt; 131

agccgcatac tcccttacct tct

23

&lt;210&gt; 132

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 132  
gcagcagccc aaacaccaca

20

<210> 133  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 133  
ctgagccgag aggtggaatc

20

<210> 134  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Oligonukleotid

<400> 134  
ctctctcgct tacactggaa

20

<210> 135  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 135

Gln Trp Gln Val Phe Gly Pro Asp Lys Pro Val Gln Ala Leu  
1 5 10

<210> 136  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 136

Ala Lys Trp Lys Gly Pro Gln Gly Gln Asp Leu Ser Thr Asp Ser  
1 5 10 15

<210> 137  
<211> 32  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 137

Asn Met Leu Val Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr  
1 5 10 15

Gly Met Gly Gly Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly  
20 25 30

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**